

## III Jornada Acadêmica da Embrapa Soja

**RESUMOS EXPANDIDOS**

ISSN 1516-781X

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*

*Outubro, 2008*

*Embrapa Soja*

*Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Documentos 297***

## **III Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**

### ***Resumos Expandidos***

Embrapa Soja  
Londrina, PR  
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Soja**

Rodovia Carlos João Strass - Acesso Orlando Amaral

Caixa Postal 231 - 86001-970 - Londrina, PR

Fone: (43) 3371-6000 - Fax: 3371-6100

www.cnpso.embrapa.br

sac@cnpso.embrapa.br

**Comitê de Publicações da Embrapa Soja**

**Presidente:** José Renato Bouças Farias

**Secretária executiva:** Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

**Membros:** Antonio Ricardo Panizzi  
Claudine Dinali Santos Seixas  
Francismar Corrêa Marcelino  
Ivan Carlos Corso  
Maria Cristina Neves de Oliveira  
Norman Neumaier  
Rafael Moreira Soares  
Sérgio Luiz Gonçalves

**Supervisor editorial:** Odilon Ferreira Saraiva

**Normalização bibliográfica:** Ademir Benedito Alves de Lima

**Editoração eletrônica:** Maria de Lourdes Monteiro

Marisa Yuri Horikawa

**Capa:** Danilo Estevão

**1ª edição**

1ª impressão (2008): 350 exemplares

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Embrapa Soja**

---

Jornada Acadêmica da Embrapa Soja (3. : 2007: Londrina, PR).

Resumos expandidos. Londrina: Embrapa Soja, 2008.

232p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n. 297)

1. Soja-Pesquisa. 2. Pesquisa agrícola. I. Título. II. Série.

CDD 633.34072

---

© Embrapa 2008

# Apresentação

A Jornada Acadêmica da Embrapa Soja tem como objetivo promover o trabalho desenvolvido pelos estudantes que integram o Programa de Estágio de Complementação Educacional da Embrapa, junto às equipes de pesquisa e apoio da Unidade.

Por meio da inscrição de trabalhos nas modalidades escrita, oral e sessão pôster, os participantes vivenciam a dinâmica de um congresso científico, contando com o suporte de seus orientadores, da área de Comunicação Empresarial e do Comitê de Publicações da Embrapa Soja. Além disso, interagem com seus pares, com a comunidade convidada e com o público interno da Embrapa Soja, em um significativo processo de aprendizagem.

Em sua 3.<sup>a</sup> Edição, realizada em outubro de 2007, a Jornada contou com 42 trabalhos inscritos em pôsteres e com 40 apresentações orais. Os resumos expandidos encontram-se nesta publicação, que temos a satisfação de apresentar.

Cabe à Embrapa Soja agradecer a dedicação dos estudantes e seus orientadores que contribuíram para a realização da III Jornada Acadêmica e parabenizar a todos pelos bons resultados alcançados.

*José Renato Bouças Farias*

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento  
Embrapa Soja



# Sumário

Avaliação e Seleção de Híbridos e Variedades de Girassol. Salasar, F. P.L.T. ; Carvalho, C. G.P. de. ; Marques, C. R.G.....	11
Efeito da Rotação de Culturas e Semeadura Direta sobre Pató- genos Radiculares da Soja. Balestri, M.R.D., Laurindo, D. G., Soldera, M. C.A., Simionato, A.A., Costa, J.M., Almeida, A.M.R. ...	16
Saturação de Regiões Genômicas da Soja Associadas a Genes de Resistência à Ferrugem Asiática. Souza, L.G. de; Silva, D.C.G. da ; Silveira,C.A. da ; Marin, S.R.; Santos, J.V.M. dos; Yamanaka, N.; Abdelnoor, R.V.; .....	21
Identificação do <i>Cowpea Mild Mottle Virus</i> em Soja no Muni- cípio de Sorriso, Mato Grosso. Laurindo,D.G., Soldera,M.C.A., Balestri, M.R.D., Hoffmann,L.L., Meyer, M.C., Almeida, A.M.R. ....	25
Avaliação da Preferência Sensorial de Extratos Solúveis de Soja, obtidos de Cultivares Especiais para a Alimentação Humana. Silva, J.B. da; Oliveira, G. B. A. de; Silva, S.O.; Oliveira, E.F. de; Campos Filho, P.J. de; Carrão-Panizzi, M.C.; Mandarino, J.M.G. ....	29
Reação de Genótipos de Soja a <i>Meloidogyne mayaguensis</i> e <i>M.ethiopica</i> . Ribeiro, N.R.; Dias, W.P.; Homechin, M.; Parpinelli, N.M.B.; Francisco, A.; Lopes, I.O.N. ....	37

Indicadores Biológicos de Qualidade do Solo em Sistemas de Rotação de Culturas corrigidos com Calcário. Souza, R.A.; Silva, A.P.; Babujia, L.C.; Stanzani, E.L.; Pauletti, V.; Franchini, J.C.; Hungria, M. ....	42
Composição Centesimal e Teor de Isoflavonas da Soja Verde colhida em diferentes horas do dia. Santana, A.C.; Oliveira, G.A.B. de.; Carrão-Panizzi, M.C.; Mandarino, J.M.G. ....	47
Filogenia dos genes <i>gltA</i> e <i>glnII</i> como suporte para a classificação de espécies no gênero <i>Rhizobium</i> . Ribeiro, R. A.; Barcellos, F.G.; Hungria, M. ....	53
Biomassa microbiana em sistemas de manejo do solo e de culturas típicas da região norte do Paraná. Silva, A.P.; Souza, R.A.; Babujia, L.C.; Neves, M.C.P.; Franchini, J.C.; Hungria, M. ....	60
Otimização do Processo de Produção de Bio-Óleo na Miniusina instalada na Embrapa Soja. Felici, P.H.N.; Borges, J.L.B.; Ávila, M.T.; Gazzoni, D.L. ....	65
Caracterização da Miniusina de Craqueamento de Óleos Vegetais Instalada na Embrapa Soja. Borges, J.L.B.; Felici, P.H.N.; Ávila, M.T.; Gazzoni, D.L.; Portugal, F.F. ....	69
Balanco Energético na Cultura do Dendê para Produção de Biodiesel – Parte Agrícola. Borges, J.L.B.; Felici, P.H.N.; Ávila, M.T.; Gazzoni, D.L. ....	74
Desenvolvimento de Linhagens Endogâmicas Recombinantes para a Análise Genética da Tolerância à Ferrugem Asiática da Soja. Santos, J.V.M. dos; Yamanaka, N.; Silva, D.C.G. da; Passianotto, A.L.L.; Nogueira, L.M.; Tobita, S.; Arias, C.A.A.; Nepomuceno, A.L.; Abdelnoor, R.V. ....	81

Mapeamento do Locos de Resistência à Ferrugem Asiática no Genótipo PI 200526 (Shiranui). Camargo, P.O.; Catelli, L.L.; Yamanaka, N.; Arias, C.C.; Abdelnoor, R.V. ....	86
Compatibilidade de Fungicidas sobre os Fungos Entomopatogênicos <i>Beauveria Bassiana</i> e <i>Metarhizium Anisopliae</i> . Kuriama, F.; Sosa-Gómez D. R.; Silva, J. J. ....	91
Emprego de Marcadores Moleculares no estudo da Fixação Biológica do Nitrogênio visando Incrementos na Nodulação e na Fixação Biológica do Nitrogênio em Soja. Bortolato, N.M.; Santos, M.A.; Hungria, M.; Geraldi, I.O. ....	95
Determinação da Variabilidade Intra-Específica e Diferenciação de Espécies de Parasitóides e Fungos Entomopatogênicos. Margonar, D.; Sosa-Gómez, D.R.; Silva, J.J.; Corrêa-Ferreira, B.S. ....	101
Avaliação das Características Físicas das Sementes de Cultivares de Soja Especiais para Alimentação Humana no Processamento de Extrato Solúvel de Soja. Campos-Filho, P.J.; Oliveira, G.B.A.; Oliveira, E.F.; Silva, S.O.; Silva J.B.;Mandarino, J.M.G.; Carrao-Panizzi, M.C.; Oliveira, M.A. ....	106
Projeto de Melhorias para Atendimento ao Cliente do Auditório da Embrapa Soja. Favarin, A. M., Galerani, G. S. M. ....	110
Métodos de Diagnóstico do Projeto de Melhorias de Processos do Serviço de Atendimento ao Cidadão (Sac) da Embrapa Soja (Via Internet). Favarin, A. M., Galerani, G. S. M. ....	114
Seletividade de Agroquímicos ao Parasitóide de Ovos <i>Trichogramma Pretiosum</i> Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Condições de Laboratório. Pereira, L.C.G.; Bueno, A.F.; Bueno, R.C.O.F.; Bottchor, A.P.C.; Pacheco, V.M. ....	119



Caracterização Molecular de Eventos Transformados com a Construção <b>rd29a</b> : Dreb1a. Martins, M.T.B.; Nepomuceno, A.L.; Marcelino, F.C.; Farias, J.R.B.; Abdelnoor, R.; Marin S.R.R. ; Silveira, C.A.; Yamaguchi-Shinozaki, K.; Yamanaka, N.; } Nakashima K.; Paiva, A.A.R.; Beneventi, M.A.; Stolf, R.; Oliveira, G.B.A. de .....	124
Determinação de Isoflavonas e Inibidor de Tripsina de Kunitz, em Grãos e Extratos Solúveis de Soja Obtidos de Cultivares Especiais para Alimentação Humana. Oliveira, E.F.; Silva, S.O.; Silva, J.B.; Oliveira, G.B.A., Campos-Filho, P.J.; MandArino, J.M.G.; Carrão-Panizzi, M.C.....	128
Composição Centesimal e Solubilidade da Proteína de Cultivares de Soja Especiais para Alimentação Humana no Processamento de Extrato Solúvel de Soja. Silva, S.O.; Oliveira, E.F.; Oliveira, G.B.A.; Silva, J.B.; Campos-Filho, P.J.; Mandarino, J.M.G.; Carrão-Panizzi, M.C.....	134
Comparação da Composição Química entre Cultivares de Soja Isogênicas Convencionais e Transgênicas. Mardegan, F. U.; Carrão-Panizzi, M.C.; Mandarino, J.M.G.;.....	140
Serviço de Referência da Biblioteca da Embrapa Soja. Betteto, M.J.R.; Lima, A.B.A. de .....	146
Rendimento de Grãos de Cultivares de Soja Convencional e Transgênica em resposta á Disponibilidade Hídrica. Bertoncini, J. D.; Felssner, G. C. L.; Custódio, A, M.; Nascimento Jr, L.; Victor, R.; Salinet, L.H.; Neumaier, N.; Nepomuceno, A.L.; Farias, J.R.B. ....	150
Análise comparativa de Métodos de Extração de Nutrientes de Tecidos Vegetais. Silva, E.R.da; Oliveira, F.A.de; Oliveira Neto, W.de; Ortiz, F.R.; Castro, C.de .....	154

Auxílio no Desenvolvimento de Projetos para Melhoria do Relacionamento da Embrapa Soja com seus Públicos Interno e Externo. Figueiredo, H.V., Galerani, G.S.M. ....	159
Caracterização das Respostas de Cultivares de Soja à Disponi- bilidade Hídrica. Nascimento Júnior, I.; Custódio, A. M.; Felssner, G. C.; Bertoncini, J. D.; Victor, R.; Salinet, I.H.; Nepomuceno, A.L.; Neumaier, N.; Farias, J.R.B.....	165
Reação de Genótipos de Soja a <i>Meloidogyne javanica</i> . Parpinelli, N.M.B.; Carneiro, G.E.S.; Dias, W.P.; Ribeiro, N.R.; Francisco, A. ....	170
Riscos Climáticos à Cultura do Girassol: Aspectos Fitossanitários. Quinelato, A.L.; Cardoso, M.R.; Almeida; I.R.; Farias, J.R.B.....	176
As Ferramentas de Comunicação de Marketing na Transferência de Tecnologia da Embrapa Soja. Pires, L. M. M.; Campanini, S. M. S.; Oliveira, A. B. de; Domit, L. A.; Andrade, J. G. M. de; Silva, V. A. da. ....	180
Seleção de Bactérias Promotoras para a Produção Orgânica de Soja e Trigo. Souza, R.C. de; Cattelan, A.J.; Betti, A.F.F.; Oliveira, M.C.N. de. ....	184
Diversidade Genética do Complexo <i>Diaporthe/Phomopsis</i> em Soja, no Brasil. Soldera, M.C.A.; Vieira, N.D.; Laurindo, D.G.; Morales, A.M.; Marin, S.R.R.; Binnek, E.; Constamilan, L.M.; Almeida, A.M.R. ....	189
Criação do Banco de Dados de “Coleção de Culturas e de Genes de Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimen- to de Plantas”. Higashi, S.; Hungria, M. ....	194
Estado Nutricional de Soja Transgênica e Não-Transgênica, com os Respectivos Manejos associados ao uso dessas Cultivares. Stanzani, E. L.; Babujia, L. C.; Pereira, A. S.; Souza, R. A.; Franchini, J.C.; Hungria, M. ....	198

Sequestro Diferencial de Carbono em Frações Obtidas por Ultrasonificação. Babujia, L. C.; Stanzani, E. L.; Silva, A. P.; Souza, R. A.; Franchini, J.C.....	204
Desenvolvimento de Métodos de Estimativas de Riscos Climáticos, para a Cultura do Girassol: Risco Hídrico. Cardoso, M.R.; Quinelato, A.L.; Almeida, I.R.; Farias, J.R.....	208
Os Veículos de Comunicação Dirigida da Embrapa Soja. Ferreira, L.L., Galerani, G.S.M.....	213
Quantificação de Rutina e Genistina e Identificação de Metabólitos Secundários em Raízes e Folhas de Soja. Kawassaki, N.F.C.; Salvador, M.C.; Silva, S.H.; Kunz, E.T.; Filho, J.A.; Hoffmann-Campo, C.B. ....	219
Aprimoramento de Dieta Artificial Seca para a Criação de Percevejos Fitófagos, em Laboratório. Meiga, A. Y.Y.; Siqueira, F.; Panizzi, A.R.....	224
Normas Dris para Avaliação do Estado Nutricional de Cultivares de Soja Convencional e Transgênica. Romagnoli, L. M.; Oliveira, F. A. de; Castro, C. de, Sfredo, G. J. ....	228

# Avaliação e Seleção de Híbridos e Variedades de Girassol

---

SALASAR, FLÁVIA P.L.T.<sup>1</sup>; CARVALHO, CLAUDIO G.P. DE.<sup>2</sup>; MARQUES, CAMILA.R.G.<sup>3</sup> <sup>1</sup>Centro Universitário Filadélfia, <sup>2</sup>Embrapa Soja, <sup>3</sup>Universidade Estadual de Londrina. Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina, Paraná, e-mail: flavinhasalasar@hotmail.com

O girassol é uma oleaginosa que apresenta características importantes, como maior resistência à seca, ao frio e ao calor que a maioria das espécies normalmente cultivadas no Brasil. Dentre outras funções, as suas sementes são utilizadas para extração de óleo de alta qualidade para consumo humano e para fabricação de ração animal. Características genéticas, ambientais e técnicas agrônomicas podem determinar a produção de girassol (Robinson, 1978).

Dentre as várias tecnologias de produção de girassol, a escolha adequada de cultivares, um dos componentes dos sistemas de produção, é fundamental para garantir o sucesso da cultura. Devido à existência da interação genótipo x ambiente, faz-se necessário a avaliação contínua dos genótipos em rede de ensaios, visando o conhecimento dos seus comportamentos agrônomicos e de suas adaptações às condições edafoclimáticas das áreas produtoras.

Além do alto rendimento de grãos e da maior adaptação, outros aspectos desejáveis e considerados para o desenvolvimento de cultivar de girassol são: a) alto teor de óleo, uma vez que a política de comercialização prevê uma bonificação para teores acima de 40%, com tendências de aumento à medida que a cultura se torne mais expressiva no País; b) ciclo precoce em médio prazo, para uma perfeita integração aos diferentes sistemas de produção; c) porte reduzido, bem como uniformidade de altura e floração, para tornar o processo de colheita mais eficiente;

d) resistência às principais doenças, para garantir melhor estabilidade de produção na região Sul (Castiglioni e Oliveira, 1999).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar e selecionar os híbridos e variedades na Rede de Ensaios de Avaliação de genótipos de girassol, entre 2005 e 2006, em diferentes épocas de semeadura, para posteriormente realizar um comparativo entre os que mais se destacaram, discutir as regiões onde cada genótipo tem maior potencial para o cultivo e fornecer informações técnicas coerentes para empresas do ramo, bem como para grandes e pequenos produtores.

Foram analisados os ensaios conduzidos nas safras 2005 e 2006, em diversos locais. Os genótipos foram semeados em fevereiro/maio e agosto/outubro, dependendo da localização. No delineamento experimental foram utilizados blocos completos casualizados com quatro repetições, com cada parcela constituída de quatro linhas de 6 m de comprimento, espaçadas de 0,7 m a 0,9 m, perfazendo uma área útil de 7 a 9 m<sup>2</sup>, na época da colheita. Os genótipos avaliados foram híbridos (simples e triplos) e variedades de polinização aberta (populações). Foram utilizados como testemunhas os híbridos comerciais M 734 (Dow AgroSciences) e Agrobelt 960 (La Tijereta) e a variedade Embrapa 122.

As análises de variância individuais foram realizadas para rendimento de grãos e óleo (kg ha<sup>-1</sup>), assim como a análise conjunta de ambientes (local e ano específicos) para cada grupo de genótipos e época de semeadura. Foram considerados válidos apenas os ensaios com coeficientes de variação inferiores a 20 % (Pimentel Gomes, 1985). Para a seleção dos genótipos, a decomposição da média geral em ambientes favoráveis e desfavoráveis foi realizada e estas foram comparadas às médias das testemunhas nestes dois tipos de ambientes (Porto, 2006). A decomposição da média geral não foi realizada quando o número de ambientes favoráveis ou desfavoráveis foi igual ou inferior a três. As análises estatísticas foram realizadas usando os procedimentos 'PROC UNIVARIATE' e 'PROC GLM' do módulo de estatística do SAS (SAS, 1985).

Nas análises de variância conjuntas para rendimento de grãos e de óleo, observaram-se diferenças significativas na interação genótipos x ambientes, indicando mudança no desempenho dos genótipos de girassol nos diversos ambientes avaliados, demonstrando a importância de estudos dos componentes de rendimento em ambientes específicos. Para rendimento de grãos, apenas o híbrido HELIO 362 superou o desempenho médio dos híbridos padrões nos ambientes favoráveis, sendo indicado para esse tipo de ambiente. Nenhum híbrido se destacou nos ambientes favoráveis (Tabela 1).

Resultados similares foram também obtidos para rendimento de óleo. Para esse caráter, os híbridos HELIO 362, MG 52, V 20044, V 20038, VDH 487 e EXP 1441 foram indicados para ambientes favoráveis. Em relação a variedades, a Nutrissol foi superior a Embrapa 122 nos dois componentes de rendimento avaliados apenas nos ambientes favoráveis.

Quando um genótipo é superior em apenas um dos componentes de rendimento, como foi verificado nesse estudo, a escolha do produtor pelo melhor híbrido deve se basear na política de comercialização das indústrias que utilizam girassol. Atualmente, genótipos com teores de óleo superiores a 40 % recebem bonificações no momento da compra. Portanto, quanto maior for essa bonificação, maior será a preferência por híbridos ou variedades com rendimento de óleo elevado em relação ao rendimento de grãos.

**Tabela 1.** Valores médios (gerais e de ambientes favoráveis e desfavoráveis) do rendimento de grãos e de óleo de genótipos de girassol do Ensaio Final de Segundo Ano Safra 2006 e do Ensaio Final de Primeiro Ano Safra 2005.

Genótipo	Empresa	Rendimento (kg/ha)			Rendimento de óleo (kg/ha)		
		Geral	Ambiente favorável	Ambiente desfavorável	Geral	Ambiente favorável	Ambiente desfavorável
M 734 *	Dow AgroSciences	2294	3037	1595	928	1207	643
AGROBEL 960 *	Tijereta	2194	2868	1561	998	1331	657
Embrapa 122 **	Embrapa Soja	1768	2268	1307	762	984	535
HELIO 360	Helianthus do Brasil	2029	2699	1411	898	1215	588
HELIO 362	Helianthus do Brasil	2257	3031	1483	939	1277	601
HELIO 253	Helianthus do Brasil	2052	2776	1358	908	1244	565
MG 52	Dow AgroSciences	2120	2877	1394	985	1361	591
V 20044	Advanta	2051	2845	1304	928	1306	541
V 20038	Advanta	2129	2840	1461	933	1273	584
VDH 487	Advanta	2178	2928	1460	1058	1497	619
EXP 1441	Tijereta	2098	2762	1474	971	1295	639
NUTRISSOL	CATI	1862	2526	1226	779	1073	471
BRHT 01	Embrapa Soja	1870	2400	1381	847	1092	602
BRHS 09	Embrapa Soja	1975	2444	1542	796	999	602
<b>Média geral</b>		2058	2726	1423	909	1222	588
<b>Média dos híbridos padrões</b>		2244	2952	1578	963	1269	650
<b>C. V. (%)</b>		13,6	12,2	15,3	14,4	13,2	15,0

\* Genótipo padrão do ensaio para comparar híbridos.

\*\* Genótipo padrão do ensaio para comparar variedades.

## Referências

CASTIGLIONI, V.B.R., OLIVEIRA, M.F. Melhoramento do girassol. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Editora Viçosa, UFV, 1999.

PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental. USP-Esalq, São Paulo, 1985.

PORTO, W.S. Critérios de seleção de genótipos de girassol (*Helianthus annuus*, L.) avaliados em diferentes ambientes. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, UEM, Maringá-PR, 2006.

ROBINSON, R. G. Production and culture. In: CARTER, J.F. Ed. Sunflower science and technology. Madison, American Society of Agronomy, 1978.

SAS INSTITUTE, SAS/STAT user's guide: statistics. 5th Ed. Cary, Estados Unidos, 1990.



# **Efeito da Rotação de Culturas e Semeadura Direta sobre Patógenos Radiculares da Soja.**

---

BALESTRI<sup>1\*</sup>, M.R.D., LAURINDO<sup>1</sup>, D. G., SOLDERA<sup>2</sup>, M. C.A., SIMIONATO<sup>3</sup>, A.A., COSTA<sup>3</sup>, J.M., ALMEIDA<sup>4</sup>, A.M.R. <sup>1</sup> Centro Universitário Filadélfia – Unifil, Av. Jk, Cep 86020-000, Londrina –Pr, mairare@gmail.com. <sup>2</sup>UENP. <sup>3</sup>COAMO. <sup>4</sup>Embrapa Soja. \*Pibic.

Desde o início do cultivo da soja no Brasil, especialmente após sua expansão nos anos 70, dois importantes fatos têm sido observados: o aumento da área cultivada em semeadura direta e o aumento da incidência de doenças.

Constata-se, também, que o contínuo aumento da área com semeadura direta com soja, no Brasil, é uma realidade irreversível tendo atingido na safra 2004/05 a área de 22 milhões de hectares (John Landers, informação pessoal).

Inúmeras são as vantagens preconizadas com o sistema, como redução de erosão, aumento do teor de matéria orgânica do solo, economia de combustível, etc. (Phillips et al., 1980).

No entanto, ainda continuam evidentes as premissas de que a semeadura direta, na forma como tem sido conduzida, ao deixar restos de cultura sobre a superfície do solo pode contribuir para aumentar a incidência de doenças, obrigando a utilização de rotação de culturas. Por outro lado, o Brasil tem realizado poucas pesquisas no sistema de semeadura direta com soja, visando ao controle de doenças radiculares (Almeida, 1999).

Este trabalho teve por objetivo apresentar os resultados obtidos em sistemas de rotação e sucessão de culturas iniciados há 25 anos e a incidência de doenças radiculares.

Os sistemas de rotação utilizados neste trabalho, com semeadura direta, foram iniciados em 1986, na fazenda experimental da COAMO, no município de Campo Mourão, e estão descritos na Tabela 1, além de um tratamento extra constituído de preparo de solo convencional (aração e gradagem). Na época de floração da soja e no período de entre safra, amostras de solo foram coletadas em cada parcela com trado de diâmetro 5 cm, na profundidade de 0 cm-10 cm. As amostras foram peneiradas e mantidas a 4 °C por até 72h. Cada amostra foi utilizada separadamente para determinar a concentração de propágulos de *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Trichoderma* spp, utilizando-se meios específicos segundo descrição de Nash & Snyder (1962); Mihail & Alcorn, 1982 e Williams et al., 2003, respectivamente. A atividade microbiana foi feita avaliando-se a hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), seguindo-se técnica descrita por Schnurer & Rosswal (1982).

**Tabela 1.** Sistema de rotação utilizado.

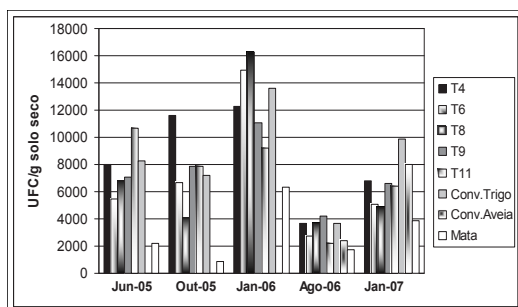
Tratamento	2002	2003	2004	2005	2006	2007
4	T-M	A-S	TR-S	TR-S	TR-S	T-M
6	T-M	Mi-S	TR-S	TR-S	TR-S	T-M
9	CN -S	N-S	TR-S	TR-S	TR-S	CN -S
11	TR-S	TR-S	TR-S	TR-S	TR-S	TR-S

CN = canola; M = milho; N = nabo forrageiro; S = soja; T = tremoço; TR = trigo; A = aveia;

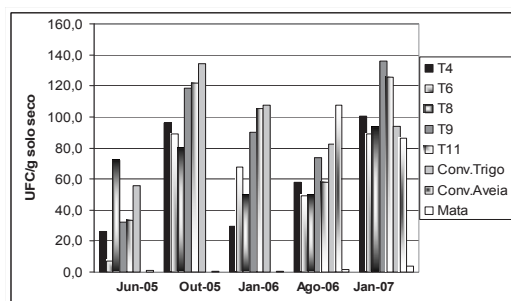
Os resultados obtidos, durante os dois anos de estudos, embora ainda não conclusivos, demonstram que determinadas culturas favorecem ou afetam a multiplicação de determinados patógenos radiculares. Por exemplo, para *F. solani*, as maiores concentrações de propágulos no solo foram determinadas no tratamento 11 (inverno de 2005) e tratamentos 6 e 8, no verão de 2006. O solo de mata, sem qualquer histórico de cultivo, foi o que sempre apresentou menor concentração desse fungo. Também se constatou que as coletas de inverno sempre apresentaram menores valores do que as coletas de verão (Fig. 1). Referente a *Macrophomina phaseolina*, não se detectou nenhum sistema que im-

pedisse o desenvolvimento do fungo ao longo dos anos. No entanto, a média da concentração de microesclerócios no solo foi sempre maior no sistema convencional (Fig. 2) do que entre outros sistemas de rotação/sucessão, em semeadura direta. Em relação a *Trichoderma* spp., a menor concentração foi identificada no tratamento 11, onde a soja é seguida de trigo anualmente e no tratamento com preparo de solo convencional. Solo de mata apresentou sempre maior concentração desse fungo (Fig. 3) e também maior atividade microbiana medida por hidrólise de fluoresceína (Fig. 4). Esses resultados demonstram que a utilização de uma espécie vegetal no inverno pode alterar a diversidade da microbiota do solo, favorecendo ou inibindo patógenos radiculares como mencionado por Van Elsas et al. (2002).

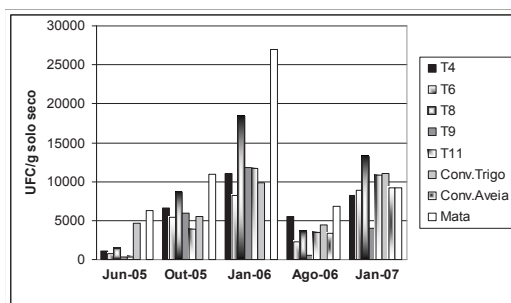
A concentração de propágulos dos microrganismos avaliados foi sempre menor no período de inverno. O solo de mata apresentou sempre alta atividade microbiana (FDA). A incidência de doenças radiculares da soja pode ser reduzida com a utilização de espécies vegetais que contribuam com maior atividade e diversidade microbiana, utilizadas em rotação ou sucessão.



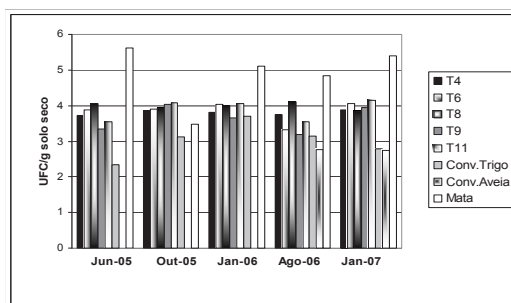
**Fig. 1.** Concentração de *Fusarium solani* em amostras de solo, coletadas a 0 cm-10 cm, em diferentes sistemas de rotação de culturas.



**Fig. 2.** Concentração de *Macrophomina phaseolina* em amostras de solo, coletadas a 0 cm-10 cm, em diferentes sistemas de rotação de culturas.



**Fig. 3.** Concentração de *Trichoderma spp* em amostras de solo, coletadas a 0 cm-10 cm, em diferentes sistemas de rotação de culturas.



**Fig. 4.** Concentração de FDA em amostras de solo, coletadas a 0 cm-10 cm, em diferentes sistemas de rotação de culturas.

## Referências

ALMEIDA, A.M.R. Severidade de doenças foliares e radiculares em soja cultivada nos sistemas de semeadura direta e convencional, com rotação ou sucessão. In: Resumos do I Congresso Brasileiro de Soja. v.1. p. 442. 1999.

MIHAIL, J.D., ALCORN, S.M. Quantitative recovery of *Macrophomina phaseolina* sclerotia from soil. *Plant Disease*. n.66, p.662-663. 1982.

NASH, S. M., SNYDER, W.C. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. *Phytopathology*.v. 52. p.567-572, 1962.

SCHNURER, J., ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology*.v. 43, p. 1256-1261. 1982.

WILLIAMS, J., CLARKSON, J.M., MILLS, P.R., COOPER, R.M. A selective medium for quantitative reisolation of *Trichoderma harzianum* from *Agaricus bisporus* compost. *Applied and Environmental Microbiology*. V.69, p. 4190-4191. 2003.

VAN ELSAS, J.D., GARBEVA, P., SALLES, J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens. *Biodegradation* v.13, p. 29-40.2002.

PHILLIPS, R.E., THOMAS, G.W., BLEVINS, R.L., FRYE, W.W., PHILLIPS, S.H. No – tillage agriculture. *Science*. v. 208, p. 1108-1113. 1980.

# Saturação de Regiões Genômicas da Soja Associadas a Genes de Resistência à Ferrugem Asiática

---

SOUZA, L.G. DE<sup>1,3</sup> ; SILVA, D.C.G.<sup>2</sup> DA ;  
SILVEIRA, C.A. DA<sup>3</sup> ; MARIN, S.R.<sup>3</sup> ; SANTOS, J.V.M.  
DOS<sup>4,3</sup> ; YAMANAKA, N.<sup>5</sup> ; ABDELNOOR, R.V.<sup>3</sup> ;  
<sup>1</sup>Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL, CEP 86020-  
000, Londrina-Pr, luanags@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>  
Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal –  
UNESP – Jaboticabal ; <sup>3</sup>Embrapa Soja ; <sup>4</sup>Universidade  
Estadual do Norte do Paraná, Campus Faculdade Luiz  
Meneghel – FFALM ; <sup>5</sup>Japan International Research  
Center for Agricultural Sciences – JIRCAS.

A principal doença que acomete a produção de soja no Brasil é a ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow. (Tecnologias, 2006). A ferrugem asiática tem causado sérios prejuízos e um aumento de custos decorrente do uso de defensivos químicos para o seu controle. Uma alternativa de controle econômico e efetivo é a obtenção de cultivares com alta resistência e produtividade (Tan et al, 1983). Associado a isso faz-se necessário a identificação de marcadores moleculares ligados aos genes de resistência à ferrugem asiática.

Hoje, existem informações disponíveis na literatura a respeito de quatro genes de resistência à ferrugem asiática: *Rpp1* (identificado na PI 200692), *Rpp2* (PI 230970), *Rpp3* (PI 462312), e *Rpp4* (PI 459025) (Bromfield & Hartwig, 1980; Hartwig, 1986). Foram identificados genes de resistência em outros genótipos como o FT-2, uma cultivar brasileira. Todos esses genes eram efetivos quando a doença foi descoberta no Brasil, entretanto, em 2003, houve uma quebra da resistência conferida pelos genes *Rpp1*, *Rpp3* e pelo locus identificado na cultivar FT-2, enquanto os genes *Rpp2* e o *Rpp4* permanecem efetivos (Arias et al, 2004).

Este trabalho tem como objetivo saturar as regiões cromossômicas que contêm os genes de resistência à ferrugem asiática *Rpp2* e *Rpp4*, utilizando marcadores moleculares RAPD.

Em um trabalho realizado anteriormente (Silva et al, 2006), no qual foram mapeados os genes *Rpp2* e *Rpp4* no grupo de ligação da soja, foram utilizados dois cruzamentos: um entre a cultivar suscetível BRS184 e o genótipo PI 230970 (possuidora do gene de resistência *Rpp2*), e outro entre a BRS184 e a PI 459025 (possuidora do gene de resistência *Rpp4*). Das plantas  $F_1$  desses cruzamentos, foram obtidas populações segregantes  $F_{2:3}$ , compostas por 130 e 80 indivíduos, respectivamente. Tais populações foram inoculadas com o fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Para identificar marcadores mais próximos ao gene da ferrugem da soja, foram construídos dois *bulks* de DNA de 12 plantas diferentes, obtidos de cada uma das populações  $F_2$  em estudo: um *bulk* de plantas homozigotas resistentes e um de plantas homozigotas suscetíveis. Esses *bulks* foram utilizados para a amplificação de marcadores RAPD (Michelmores et al, 1991).

A amplificação dos loci foi realizada de acordo com a método descrito por Williams et al. (1990). As reações de PCR foram compostas de Tris a 10 mM e pH 8,5, KCl a 50 mM,  $Mg^{2+}$  a 2,4 mM, dNTPs a 100  $\mu$ M, *primers* a 0,4  $\mu$ M, o DNA genômico a 10 ng e 1 unidade de Taq DNA polimerase, em um volume total de 25  $\mu$ L. As condições de amplificação consistiram de um período inicial de desnaturação do DNA de cinco minutos a 94 °C, seguido de 40 ciclos térmicos, com cada um deles incluindo as etapas de desnaturação do DNA por 30 segundos a 94 °C, anelamento dos *primers* por 45 segundos a 35 °C e extensão por 60 segundos a 72 °C. Após os ciclos térmicos, um período final de extensão de sete minutos a 72 °C foi realizado. A eletroforese dos fragmentos amplificados foi feita em géis de agarose 1,3 %, corados com brometo de etídeo.

Foram testados 20 *primers* aleatórios de RAPD (Operon Technologies). Alguns *primers* geraram polimorfismo entre os *bulks*, entretanto, para vários deles, a reação controle sem DNA (branco) apresentou banda,

sugerindo sua contaminação com DNA. A maioria dos primers selecionados apresentou-se contaminada com DNA, não sendo confiável a sua utilização no presente trabalho. Devido a isso, foi alterada a estratégia do trabalho, com o uso de marcadores tipo AFLP, que têm como vantagem o grande número de fragmentos que são gerados e resolvidos em um único gel. No momento, a metodologia de AFLP está sendo implementada e testada no laboratório para ser usada na identificação de polimorfismos entre os *bulks* de DNA. Os marcadores AFLP polimórficos serão usados para a saturação das regiões genômicas contendo os alelos *Rpp2* e *Rpp4*.

## Referências

ARIAS, C.A.A.; RIBEIRO, A. S.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R. L.; OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J.F.F. de. Inheritance of resistance of soybean to rust (*Phakopsora pachyizi* Sidow). In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz de Iguaçu. **Abstracts of contributed papers and posters**. Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 100 (Embrapa Soja. Documentos, 228). Editado por Flávio Moscardi, Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Odilon Ferreira Saraiva, Paulo Roberto Galerani, Francisco Carlos Krzyzanowski, Mercedes Concosdia Carrão-Panizzi.

BROMFIELD, K.R.; HARTWIG, E.E. Resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) and mode of inheritance. **Crop Science**, v. 20, 1980. p.254-255.

Tecnologias para a produção de soja – região central do Brasil – 2007. Londrina: Embrapa Soja; Embrapa Cerrados; Embrapa Agropecuária Oeste, 2006, 225p. Disponível em < <http://www.cnpso.embrapa.com.br> > Acesso em dezembro de 2006.



HARTWIG, E.E. Identification of a 4th Major Gene Conferring Resistance to Soybean Rust. **Crop Science**, v.26, p.135-1136, 1986

MICHELMORE, R.W.; Paran, I.; Keselli, V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregant populations. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.88 p.9828-9832, 1991.

SILVA, D.C.G.; YAMANAKA, N.; BROGIN, R.L., PEREIRA, S. dos S.; NOGUEIRA, L.M.; PASSIANOTTO, A.L.; CATELLI, L.L.; ARIAS, C.A.A.; NEPOMUCENO, A.L.; ABDELNOOR R.V. **Mapeamento de genes de resistência à ferrugem asiática da soja**. In: 3º Congresso de Soja do Mercosul – Mercosoja, p 253, 2006.

TAN, Y.J.; Yu, Z..L.; Liu, J.L. Studies on the epidemic regulation and control of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* Sydow. **INTSOY International Soybean Program series**, 1983 p. 169-174.

WILLIAMS J.; Kubelik A.; Livak K.; Rafalski J.; Tingey S. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research** v.18, p.6531-6535, 1990.

# Identificação do *Cowpea mild mottle virus* em Soja no Município de Sorriso, Mato Grosso

---

LAURINDO<sup>1</sup>, D.G., SOLDERA<sup>2</sup>, M.C.A., BALESTRI<sup>1</sup>, M.R.D., HOFFMANN<sup>3</sup>, L.L., MEYER, M.C., ALMEIDA<sup>4</sup>, A.M.R. <sup>1</sup>Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL CEP 86020-000, Londrina – PR. e-mail: daysa\_laurindo@hotmail.com.br <sup>2</sup>UEMP. \* PIBIC. <sup>3</sup>Gtec Médio. Norte. <sup>4</sup>Embrapa Soja.

Em plantas, algumas doenças causadas por vírus apresentam sintomas como mosaico, clorose do limbo foliar, nanismo, necrose de folhas e hastes. O aparecimento desses sintomas pode ser indicativo de infecção viral. No entanto, há inúmeros relatos desses sintomas relacionados a doenças causadas por fungos e também por ação de agentes, abióticos como fungicidas, herbicidas e inseticidas.

Em agosto de 2001, plantas de soja oriundas de Barreira, estado da Bahia, com sintomas de queima do broto e necrose de haste foram analisadas, constatando-se infecção por *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) (Almeida et al., 2005). Nos anos seguintes (2002 e 2003), sintomas similares foram constatados em Mato Grosso, Maranhão e Paraná. Recentemente, em fevereiro de 2007, plantas de soja coletadas no município de Sorriso, Mato Grosso, apresentavam retenção foliar (Fig. 1 e 2), sem presença de vagens formadas ou vagens contendo apenas um grão. Algumas plantas apresentavam os folíolos enrolados, sugerindo ocorrência de virose. Os sintomas são conhecidos na região como “soja louca”. Este trabalho descreve a diagnose efetuada e as conclusões dos resultados obtidos.

Plantas de soja com sintomas e sem sintomas de enrolamento foliar foram coletadas em diferentes campos de produção no município de Sorriso-MT. Após maceração de folhas em tampão cobertura, as amostras foram analisadas por ELISA indireto (Koenig, 1981) e Dot-ELISA

(Hibi & Saito, 1985) utilizando IgG produzida contra CPMMV. Hastes dessas plantas também foram enxertadas em plantas de soja das cultivares CD 206 e BRSMT Pintado e mantidas em casa de vegetação.

Para testes de inoculação mecânica, extratos de folhas das plantas coletadas com sintomas em Sorriso-MT e outra amostra de Barreiras-BA utilizada para comparação foram inoculados mecanicamente em diferentes cultivares de soja. Os sintomas foram avaliados 12-20 dias após a enxertia.

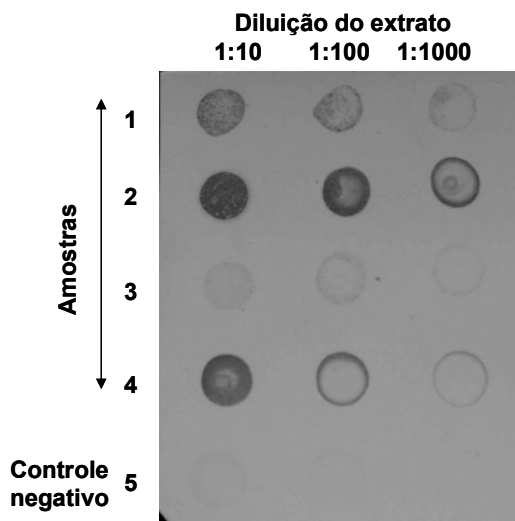
Os resultados demonstraram que as plantas com e sem sintomas apresentavam infecção por CPMMV. Em ambos os testes foram utilizados ELISA indireto e Dot-ELISA (Fig.3). Do total de amostras analisadas, 29,5 % estavam infectadas.



**Fig. 1.** Plantas com haste verde e retenção foliar após dessecação.



**Fig. 2.** Retenção foliar observada em plantas de soja.



**Fig. 3.** Reação de Dot-ELISA com IgG preparada a partir de antissoro obtido para *Cowpea mild mottle virus* utilizando amostras de soja coletadas no município de Sorriso-MT.

**Tabela 1.** Reação de cultivares de soja inoculadas mecanicamente com isolados do *Cowpea mild mottle virus* de Sorriso-MT e Barreiras-BA.

Cultivar	Isolado Sorriso		Isolado Barreiras*	
	Reação**	%	Reação	%
CD 206	MF, NS	100,0	MF, NS	100,0
BRSMT Pintado	SS	0,0	SS	0,0
Mirador	MF, NS	100,0	MF, NS	100,0
BRS 133	M	100,0	M	100,0
BRS Tracajá	MF	100,0	M	100,0

\* O isolado de Barreiras-BA foi utilizado como controle positivo

\*\* MF = mosaico forte, com bolhosidade; NS = necrose sistêmica; SS = sem sintoma; M mosaico definido sem bolhosidade.

Nos testes com enxertia, apenas plantas da cv. CD 206 apresentaram sintomas que variaram de necrose sistêmica a mosaico, com forte bolhosidade. Em algumas plantas verificou-se nanismo. Plantas da cv. BRSMT Pintado não apresentaram sintomas. Os sintomas das plantas das diferentes cultivares mostraram que o isolado de Sorriso-MT não diferiu do isolado de Barreiras-BA quanto à virulência e à intensidade dos sintomas (Tabela 1).

Os resultados sugerem que os sintomas de “soja louca”, com retenção foliar, inflorescência tipo macho estéril e saliências ao longo da haste não são causados apenas pelo CPMMV, podendo haver interação com fatores abióticos desconhecidos e que devem ser pesquisados.

## Referências

ALMEIDA, A.M.R.; PIUGA, F.F.; MARIN, S.R.R.; KITAJIMA, E.W.; GASPAR, J.O.; OLIVEIRA, T.G. & MORAES, T.G. Detection and partial characterization of a carlavirus causing stem necrosis of soybean in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 30:191-194. 2005.

ALMEIDA, A.M.R.; VLIET, H. V. D.; KITAJIMA, E. W.; PIUGA, F.F.; MARIIN, S. R. R.; VALENTIN, N.; BENATO, L.C.; BINECH, E.; NEPOMUCENO, A.L.; Necrose da haste: uma nova virose da soja, no Brasil. In: Congresso Brasileiro de soja, 2002, Foz do Iguaçu, v.1.p.42.

CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento disponível em:

< [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br) > Acesso em 8 agosto de 2006.

COODETEC-Tecnologia da nossa Terra. Doença da soja: Necrose da Haste, Disponível em < [www. Cooodetec.com.br/ artigos.asp?id=92](http://www.Cooodetec.com.br/artigos.asp?id=92) > Acesso em 10 dezembro de 2006.

GASPAR, J.O. & COSTA, A. S. Vírus do mosaico angular do feijoeiro: purificação e ultraestrutura dos tecidos infectados. *Fitopatologia brasileira*, v.18, p.534-540, 1993.

HIBI, T., Y. SAITO. 1985. A dot-immunobinding assay for the detection of tobacco mosaic virus in infected tissues. *Journal General Virology*

66;1191-1194.

KOENIG, R. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, v.55, p. 53-62, 1981.

LAEMMLI, U.K . Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.224, p.680-685, 1970.

SANTOS, O.S. A cultura da soja. Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. *Coleção do agricultor*. Rio de Janeiro; Globo, 299., 1988.

# **Avaliação da Preferência Sensorial de Extratos Solúveis de Soja, Obtidos de Cultivares Especiais para a Alimentação Humana**

---

SILVA, J.B. da (Universidade Estadual de Londrina, UEL, Rodovia Celso Garcia Cid | Campus Universitário, Cx. Postal 6001 | CEP 86051-990 | Londrina – PR, e-mail:josi@cnpso.embrapa.br); OLIVEIRA, G. B. A. DE (Universidade Norte do Paraná / UNOPAR); SILVA, S.O. (Universidade Estadual de Londrina / UEL); OLIVEIRA, E.F. de (Universidade Estadual de Londrina / UEL); CAMPOS FILHO, P.J. de (Universidade Norte do Paraná / UNOPAR); CARRÃO-PANIZZII, M.C. (Embrapa Soja); MANDARINO, J.M.G.(Embrapa Soja)

O extrato solúvel de soja tem sido utilizado como constituinte de produtos lácteos, tais como iogurtes, formulados infantis, sorvetes, cremes e sucos de frutas. Esses produtos apresentam sabor suave que pouco lembra o do “leite” de soja original (AIZO, 1997). A bebida, que apresenta alta qualidade protéica e energética (SMITH & CIRCLE, 1978; SILVA, 1989), é recomendada para pessoas com intolerância à lactose (LIU, 1997). Avanços tecnológicos para a produção de extrato de soja com melhores qualidades sensoriais têm sido desenvolvidos. A utilização de cultivares desprovidas das lipoxigenases, enzimas responsáveis pelo sabor descrito como “beany” (LIU, 1997), permite a melhora do sabor dos produtos à base de soja, dispensando o tratamento térmico dos grãos e mantendo as propriedades funcionais das proteínas (NELSON et al., 1976). Da SILVA (2005), ao avaliar a aceitabilidade de diferentes bebidas de soja, verificou que a obtida com a cultivar desprovida de lipoxigenases foi a mais aceita pelos consumidores, sendo que a adição de sacarose ao produto contribuiria ainda mais para melhorar o sabor. O objetivo do trabalho foi avaliar a preferência sensorial de extratos solúveis de soja produzidos com cultivares especiais para a alimentação humana.

Para o preparo dos extratos solúveis de soja foram utilizados grãos das cultivares BRS 213 e BRS 257 (desprovidas das enzimas lipoxigenases) (CARRÃO-PANIZZI et al., 2002), das cultivares convencionais BRS 258 e Embrapa 48 e da cultivar BRS 267, que apresenta sabor suave e adocicado e que também pode ser utilizada como hortaliça (CARRÃO-PANIZZI et al., 2006). Os extratos solúveis na formulação original, na formulação com sacarose (0,08 % m/v) e na formulação com sacarose (0,08 % m/v) e aroma de baunilha (0,1 % v/v), foram produzidos no equipamento SOJAMAC, modelo MJ720. No processamento, os grãos de soja foram macerados por duas horas, a 50°C, a água da maceração foi descartada e os grãos foram moídos com 2000 mL de água. O tempo total para o preparo de cada extrato solúvel de soja foi de 30 minutos. A leitura da coloração das amostras foi realizada em colorímetro da marca MINOLTA, modelo CR 13, e os resultados foram expressos em  $L^*$ , para intensidade da cor, sendo que o valor 100 é para a coloração branca e 0 para a coloração preta;  $a^*$  para as colorações vermelha (+) e verde (-); e  $b^*$  para as colorações amarelo (+) e azul (-). O teor de sólidos solúveis dos extratos solúveis de soja foi avaliado em refratômetro digital modelo PR – 101, marca ATAGO e o valor expresso em °Brix. O rendimento dos extratos de soja foi determinado por meio da pesagem dos grãos, antes e após a maceração, e adição de 2 000 mL de água para o processamento. Para o teste sensorial, os provadores realizaram sessões de treinamento que incluíram testes de reconhecimento dos gostos e odores básicos e testes de ordenação de intensidade de cor e textura (STONE & SIDEL, 2004). Os testes para verificar a preferência dos provadores treinados, em relação aos extratos solúveis de soja, nas formulações original, adocicado e com aroma de baunilha, foram conduzidos na cozinha experimental da Embrapa Soja e realizados em três sessões individuais. As bebidas foram servidas geladas ( $7\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), utilizando copos plásticos de 30 mL, contendo cerca de 15 mL de cada amostra e codificados com números de três dígitos. A ordem de apresentação das amostras foi monádica balanceada (MACFIE et al., 1989). Os provadores foram orientados para que, entre cada amostra, bebessem água à temperatura ambiente (24 °C) para limpar o palato e pre-



pararem-se para a próxima amostra. Foi solicitado aos provadores treinados que colocassem em ordem crescente de preferência as amostras avaliadas. Para análise dos resultados utilizou-se o método Friedman, em que cada amostra, em cada julgamento, recebe um valor correspondente à posição em que foi ordenada, conforme descrito em DA SILVA & DAMÁSIO (1994).

A aceitabilidade do alimento pelo consumidor depende de características sensoriais relacionadas à cor, ao aroma, ao gosto e à textura do produto (STONE & SIDEL, 2004). O parâmetro cor dos grãos de soja é influenciado pelas características da cultivar e tipo de solo, sendo que cultivares com sementes com hilo de cor amarela são preferidas pela indústria de alimentos, uma vez que os produtos ficam mais claros. Os extratos de soja original e com sacarose apresentaram valores intermediários para a coloração branca  $L^*$ , para todas as cultivares (Tabelas 1 e 2). Nas formulações com baunilha houve variações para os valores de  $L^*$  quanto à coloração do extrato (Tabela 3) e as cultivares BRS 267 e BRS 258 ficaram mais escurecidas. A BRS 213 e a Embrapa 48 apresentaram extratos de coloração mais clara após a adição de sacarose e baunilha (Tabela 3). As observações para as intensidades de  $L^*$  estão em conformidade com as medidas observadas para  $a^*$  e  $b^*$ . Nas formulações original e com sacarose na cultivar BRS 267 percebeu-se que as tonalidades da cor ficaram menos vermelhas e azuis (Tabelas 1 e 2), deixando os extratos mais claros, o que não aconteceu com o extrato com adição de sacarose e baunilha (Tabela 3). As cultivares Embrapa 48 e BRS 213 apresentaram extratos formulados mais claros, com tonalidades mais amarelas e menos azuis (Tabela 3). SAITO et al. (2004) verificou que a “okara” (resíduo do extrato), produzida com a cultivar BRS 213, apresentou cor amarela (valor de  $a^*$  -2,0), sendo a mais indicada como matéria-prima para alimentos de soja. Quanto aos valores de °Brix, as cultivares BRS 267 e Embrapa 48 apresentaram valores mais altos do que as demais, para as formulações com sacarose e baunilha (Tabelas 2 e 3). O extrato obtido com a cultivar BRS 267 apresentou maior rendimento (Tabela 4), provavelmente devido ao tamanho dos grãos (peso de 100 sementes ao redor de 27 g).

**Tabela 1** – Parâmetros de cor<sup>1</sup> e teor de °Brix dos extratos de soja original.

Extrato original	L*	a*	b*	°Brix
BRS 213	43,3	-1,6	7,4	3,1
BRS 267	49,8	-1,5	5,2	3,2
BRS 257	45,4	-2,4	10,0	3,0
BRS 258	46,5	-2,5	3,8	2,4
Embrapa 48	44,5	-3,6	7,7	2,8

<sup>1</sup> os valores são médias de três repetições; L\*, valor indica a intensidade branca (100) ou preta (0); a\*, valor indica a intensidade vermelha (-) ou verde (+); b\*, valor indica a intensidade amarelo (-) ou azul (+)

**Tabela 2** – Parâmetros de cor<sup>1</sup> e teor de °Brix dos extratos de soja com sacarose.

Extrato com sacarose	L*	a*	b*	°Brix
BRS 213	42,8	-3,4	8,3	8,7
BRS 267	44,6	-2,7	5,1	10,2
BRS 257	47,6	-3,0	10,4	8,7
BRS 258	41,3	-2,7	5,1	8,4
Embrapa 48	45,1	-2,9	6,8	10,2

<sup>1</sup> os valores são médias de três repetições; L\*, valor indica a intensidade branca ou preta; a\*, valor indica a intensidade vermelha (-) ou verde (+); b\*, valor indica a intensidade amarelo (-) ou azul (+)

**Tabela 3** – Parâmetros de cor<sup>1</sup> e teor de °Brix dos extratos de soja com sacarose e aroma de baunilha.

Extrato com sacarose e aroma de baunilha	L*	a*	b*	°Brix
BRS 213	43,3	-3,2	6,8	8,7
BRS 267	28,8	-2,6	15,7	9,8
BRS 257	40,9	-4,3	10,8	8,9
BRS 258	36,2	-1,7	7,2	8,7
Embrapa 48	44,3	-2,3	6,1	9,6

<sup>1</sup> os valores são médias de três repetições; L\*, valor indica a intensidade branca ou preta; a\*, valor indica a intensidade vermelha (-) ou verde (+); b\*, valor indica a intensidade amarelo (-) ou azul (+)

Tabela 4 – Determinação do rendimento dos extratos de soja solúveis.

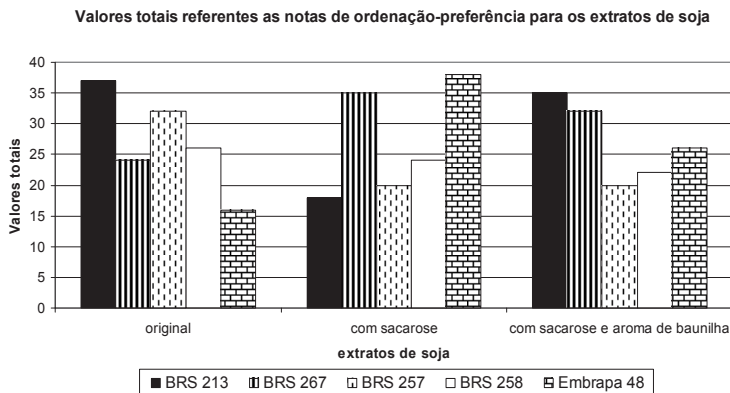
Extratos	Peso <sup>1</sup> dos grãos antes do processamento	Peso <sup>1</sup> dos grãos após maceração	Absorção de água <sup>2</sup>	Rendimento do extrato <sup>3</sup>
BRS 213	210	865	3,11	2655
BRS 257	200	955	3,77	2755
BRS 258	215	475	1,21	2260
BRS 267	220	1025	3,66	2805
Embrapa 48	210	955	3,55	2745

<sup>1</sup> resultados expressos em gramas (g); <sup>2</sup> relação entre a absorção de água e massa de grãos;

<sup>3</sup> resultados expressos em mililitros (mL) obtidos pela diferença do peso dos grãos antes e após maceração e adição de 2 000 mL de água

Os testes de preferência dos extratos mostraram que o original obtido com a cultivar BRS 213 foi significativamente preferido em relação aos demais, seguido pelo da cultivar BRS 257. Como essas cultivares não apresentam as enzimas lipoxigenases, responsáveis pelo desenvolvimento do “*beany flavor*”, essa característica favoreceu o sabor do extrato original (Fig. 1). A adição de sacarose favoreceu o sabor dos extratos da Embrapa 48 e BRS 267. Entretanto, quando os extratos foram formulados com sacarose e baunilha, a exemplo dos extratos comerciais, as cultivares BRS 213 e BRS 267 foram as preferidas. Esses resultados mostram que o emprego de cultivares de soja próprias para alimentação humana e tecnologias apropriadas pelas indústrias de gêneros alimentícios podem contribuir para aumentar a aceitação global da soja e de seus produtos.

- Os extrato original obtido com a cultivar BRS 213 apresentou preferência significativa em relação aos demais; já o da cultivar Embrapa 48 foi mais preferido quando a sacarose foi adicionada.
- De modo geral, foram observados baixos valores para os parâmetros de cor L\*, a\* e b\* dos extratos de soja original, formulados com sacarose e com sacarose e baunilha.
- Os extratos originais apresentaram um valor de ° Brix ao redor de 3, e conforme esperado, a adição de sacarose aumentou este teor para 10 ° Brix.
- A cultivar BRS 267 apresentou um maior rendimento de extrato.



**Fig. 1** – Teste de preferência para as amostras dos extratos solúveis de soja original, formulados com sacarose e formulados com sacarose e aroma de baunilha

## Referências

AIZO, S. Setor de sucos atrai gigante sucro-alcooleira. **Engarrafador Moderno**, v. 8, n. 54, p. 8 – 10, 1997.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; ALMEIDA, L.A.; MIRANDA, L.C.; KIIHL, R.A.S.; MANDARINO, J.G.M.; ARIAS, C.A.A.; YORONORI, J.T.; ALMEIDA, A.M.R.; TOLEDO, J.F.F. BRS 213 - nova cultivar de soja para alimentação humana. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2.; MERCOSOJA 2002, 2002, Foz do Iguaçu. **Perspectivas do agronegócio da soja: resumos**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 201. (Embrapa Soja. Documentos, 181). Organizado por Odilon Ferreira Saraiva, Clara Beatriz Hoffmann-Campo.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; PÍPOLO, A. E.; ALMEIDA, L. A.; MANDARINO, J. M. G.; KASTER, M.; ARIAS, C. A. A.; CARNEIRO, G. E. de S.; TOLEDO, J. F. F. de; MIRANDA, L. C.; YORINORI, J. T.; DIAS, W. P.; ALMEIDA, A. M. R.; DOMIT, L. A.; BENASSI, V. de T; ARANTES, N. E.; OLIVEIRA, A. C. B. de; BROGIN, R. L.; LAMBERT, E. de S.; BERTAGNOLLI, P. F.; RANGEL, M. A. S.; SOUZA, P. I. de M. de. BRS 267: cultivar de soja para alimentação humana. IN: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL

DO BRASIL, 28., 2006, Uberaba. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional: Fundação Triângulo, 2006. p. 315-317. (Embrapa Soja. Documentos, 272).

DA SILVA, J. B. **Caracterização química, físico-química e sensorial de extratos de soja em pó.** 2005. 150 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Paraná.

DA SILVA, M.A.A.; DAMÁSIO, M.H. Curso de Análise Sensorial de Alimentos. Campinas. Fundação Tropical de Pesquisa de Alimentos "André Tosello".. Agosto, 1994.

LIU, K. **Soybeans chemistry technology and utilization.** Chapman and Hall, 532p, 1997.

MACFIE, H.J.H.; BRATCHELL, N.; GRENHOF, K.; VALLIS, L.V Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal Sensory Studies**, Connecticut, v. 4,p. 129-148, 1989.

NELSON, A.I.; STEINBERG, M.P.; WEI, L.S. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, v.41, n.1, p.57-61, 1976.

SAITO, M.; KUDO, H.; MANDARINO, J. M. G.; BENASSI, V. T. Effects of variety and cultivating region on the color of soymilk and other soybean processing foods in Brazil. **JARQ**, v. 38, n. 3, p. 179 – 183, 2004.

SMITH, A. K.; CIRCLE, J. J. **Soybeans: chemistry and technology.** Westport: AVI BOOK, v. 1, 1978.

SILVA, M.V. **Influência de lipoxigenase 1 e 3 no sabor de extratos hidrossolúveis de soja.** 1989. 44 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices.** 3 ed. London: Academic press, Inc., 2004.

# Reação de Genótipos de Soja a *Meloidogyne mayaguensis* e *M. ethiopica*

---

RIBEIRO<sup>1</sup>, N.R.; DIAS<sup>2</sup>, W.P.; HOMECHIN<sup>1</sup>, M.; PARPINELLI<sup>3</sup>, N.M.B.; FRANCISCO<sup>2</sup>, A.; LOPES<sup>2</sup>, I.O.N. <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Rod. Celso Garcia Cid km 380, Londrina, PR, CEP 86051-990. <sup>2</sup>Embrapa Soja. Rod. Carlos João Strass, C.P. 231. Londrina (PR). CEP 86001-970. <sup>3</sup>UNIFIL. Av Jucelino Kubitschek, 1626, Londrina, PR. CEP 86020-918. E-mail: wdias@cnpso.embrapa.br

*M. mayaguensis* e *M. ethiopica* são duas espécies de nematóides-de-galhas detectadas recentemente no Brasil, parasitando as culturas da goiaba, do quivi e outras plantas. Devido a características biológicas e grande potencial de disseminação, essas duas pragas são uma ameaça a várias culturas de interesse econômico. Ambas as espécies possuem habilidade em parasitar soja, porém nada é conhecido a cerca da existência de fontes de resistência. Este trabalho teve como objetivo identificar fontes de resistência a *M. mayaguensis* e *M. ethiopica* no germoplasma de soja.

Foram conduzidos quatro experimentos em casa-de-vegetação da Embrapa Soja, em Londrina, PR, nos meses de julho a agosto/06 (exp.1) e novembro a dezembro/06 (exp.2). O delineamento foi o inteiramente casualizado, com sete repetições. Foram avaliados 66 genótipos de soja para *M. mayaguensis* (Tabela 1) e 62 para *M. ethiopica* (Tabela 2).

Para a obtenção dos inóculos, populações puras das duas espécies dos nematóides foram multiplicadas em tomateiro 'Santa Cruz' durante 60 dias. Decorrido esse período, a parte aérea das plantas foi eliminada e as raízes cuidadosamente retiradas dos vasos, lavadas e trituradas para a extração de ovos, como proposto por Bonetti & Ferraz (1981). Em seguida, as suspensões de ovos foram recolhidas em béquer e, com auxílio de microscópio estereoscópico e de câmara Peters, foram padronizadas para conter 1.000 ovos e juvenis de segundo estágio/mL.

Os genótipos foram semeados em areia e, cerca de três dias após a emergência, as plântulas foram transferidas para tubetes com capacidade para 300 mL de solo, contendo mistura de solo: areia (1:3), previamente tratada com brometo de metila. Simultaneamente ao transplântio, cada plântula foi inoculada com 5 mL das respectivas suspensões de ovos. A avaliação do sistema radícula de cada planta ocorreu aos 60 dias após a inoculação e consistiu em atribuir nota de zero (ausência de galhas) a cinco (intensidade máxima de galhas). E na determinação dos fatores de reprodução (FR) dos nematóides.

Com relação a *M. mayaguensis*, nove genótipos se comportaram como resistentes (nota  $\leq 2$ ) e 22 como moderadamente resistentes (nota  $> 2$  e  $\leq 3$ ). Os FR encontrados variaram de 1,4 a 17,7 (Tabela 1). Para *M. ethiopica*, foram encontrados 41 genótipos resistentes e seis moderadamente resistentes. Os FR variaram de 0 a 26,2 (Tabela 2). Em geral, genótipos resistentes a *M. Javanica* também mostraram resistência às duas espécies estudadas. Por outro lado, aqueles com resistência somente a *M. incognita* mostraram-se suscetíveis a *M. mayaguensis* e tiveram comportamento variável com relação a *M. ethiopica*.

Dentro do germoplasma de soja existe variabilidade relacionada à reação a *M. mayaguensis* e a *M. ethiopica* evidenciando a possibilidade de desenvolvimento de genótipos mais resistentes.

**Tabela 1.** Médias das Notas (0-5) e dos Fatores de Reprodução (FR) de *Meloidogyne mayaguensis* em genótipos de soja, aos 60 dias após a inoculação com 5000 ovos. Embrapa Soja, agosto de 2007.

Experimento 1 (julho/06)			Experimento 2 (Novembro/06)		
Genótipos	Nota <sup>1</sup>	FR <sup>2</sup>	Genótipos	Nota	FR
BRSMT Pintado	5,0	12,4	BRSO Caipônia	5,0	9,4
PI 594753A	5,0	15,8	BRS 232	5,0	12,9
PI 594470C	5,0	13,4	CD 202	5,0	8,9
PI 5944596	4,7	14,7	BRS 214	5,0	11,6
PI 594401B	4,4	17,5	BR36	5,0	9,1
BRS133	4,4	14,7	BRS 231	5,0	14,6
Ocepar 4 Iguaçu	4,2	4,3	BRS217 Flora	5,0	11,8
BRSO Luziânia	4,0	13,9	Embrapa 20 DokoRC	5,0	14,9
Tropical	4,0	12,5	TMG108 RR	5,0	9,8
PI 594403	3,5	8,4	M-SOY 8001	4,5	17,7
PI 200538	3,5	6,9	BRS Macota	4,4	6,3
Bragg	3,2	6,4	BRS 213	4,3	2,5
BRS Celeste	3,2	5,2	BRSMG68 [Vencedora]	4,3	7,1
PI 96354	3,1	6,0	BRS 230	4,2	7,3
CD 208	3,0	6,0	BRS CORISCO	4,2	2,6
Bedford	3,0	5,8	BRS Silvânia RR	4,0	1,6
CD 217	3,0	6,9	BRS 257	3,7	3,1
Santa Rosa	3,0	4,7	BRS Marina	3,5	4,9
Forrest	3,0	7,3	BRS 240	3,5	7,1
PI 23097	2,8	6,5	BRS Eva	3,2	6,5
BRS 233	2,7	3,5	BRS 239	3,2	4,1
CD 201	2,5	5,8	BRS Baliza RR	3,0	6,3
BRSO 204 [Goiânia]	2,3	4,8	BRS Cambona	2,8	4,9
Lee74	2,3	5,1	TMG103 RR	2,8	5,8
BRSO Paraíso	2,0	6,5	Mágica73	2,6	9,2
BRSO Raimunda	1,8	4,8	BRS 261	2,6	3,6
MG/BR 46 (Conquista)	1,8	6,0	BRSMS Piapara	2,5	2,8
BRS Favorita RR	1,5	3,9	FMT Perdiz	2,5	4,4
BRS Valiosa RR	1,5	5,1	BR0111854	2,4	4,0
PI 594427C	1,0	5,2	BRS MG Garantia	2,3	2,0
PI 595099	0,8	3,2	BRS Candeia	2,8	2,9
			BRS Pétala	2,1	3,9
			FT Cometa	2,1	3,0
			BRS 211	1,7	3,4
			BRS 256 RR	1,6	3,3

1 (Taylor & Sasser, 1978); AS = AltamenteSuscestíve; S = Suscetível; MR = Moderadamente Resistente; R = Resistente

2 FR (Fator de reprodução) população final/população inicial.



Tabela 2. Médias das Notas (0-5) e dos Fatores de Reprodução (FR) de *Meloidogyne ethiopica* em genótipos de soja, aos 60 dias após a inoculação com 5000 ovos. Embrapa Soja, agosto de 2007.

Experimento 1 (julho/06)			Experimento 2 (Novembro/06)		
Genótipos	Nota <sup>1</sup>	FR <sup>2</sup>	Genótipos	Nota	FR
PI 594401 B	4,0	3,4	BRS217 Flora	5,0	26,2
BRSMT Pintado	3,5	4,3	Embrapa 20 DokoRC	4,8	21,2
PI 594596	2,4	3,6	BRS 214	4,0	14,5
Santa Rosa	2,4	0,0	CD 202	3,4	7,8
BRS Celete	2,1	0,4	BR 36	3,4	8,4
PI 230977	1,3	0,3	BRS 232	3,4	7,6
BRS Favorita RR	1,0	0,4	BRSGO Caipônia	3,3	8,3
PI 594427 C	0,8	1,0	BRS 231	3,2	8,8
PI 96354	0,5	0,2	BRSMG68 [Vencedora]	3,1	8,6
BRSGO 204 [Goiânia]	0,5	0,0	TMG 108RR	2,8	4,4
Ocepar 4 Iguazu	0,5	0,1	BRS 230	2,2	3,8
BRSGO Luziânia	0,4	1,1	BRS Silvânia RR	2,1	0,4
Bragg	0,4	0,0	BRS Corisco	2,0	0,3
CD 217	0,3	0,3	FMT Perdiz	1,7	1,8
Tropical	0,2	0,2	BRS Baliza RR	1,7	3,1
Lee 74	0,1	0,1	Mágica73	1,6	0,6
Forrest	0,1	0,1	FT Cometa	1,6	1,3
BRSGO Paraíso	0,1	0,1	TMG 103 RR	1,6	1,8
BRS 233	0,1	0,0	BRS Eva	1,4	2,1
BRSGO Raimunda	0,0	0,0	BRS Macota	1,3	0,3
CD 208	0,0	0,0	BRSMS Piapara	1,3	0,5
MG/BR 46 (Conquista)	0,0	1,3	BR0111854	1,0	0,2
PI 595099	0,0	0,1	BRS 239	1,0	0,2
BRS Valiosa RR	0,0	0,1	BRS 211	0,7	0,2
Bedford	0,0	0,2	BRS 257	0,7	0,8
CD 201	0,0	0,1	BRS Marina	0,5	0,2
			BRS Cambona	0,5	0,4
			BRS Candeia	0,4	0,2
			BRS Pétaia	0,4	0,4
			BRS 240	0,2	0,5
			BRS 256 RR	0,2	0,1
			BRS MG Garantia	0,0	0,1

1 (Taylor & Sasser, 1978); AS = Altamente Suscetível; S = Suscetível; MR = Moderadamente Resistente; R = Resistente

2 FR (Fator de reprodução) população final/população inicial.

## Referência

BONETTI, J. I. S. ; FERRAZ, S. **Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro.** Fitopatologia Brasileira, v. 6, n.3, p. 553, 1981.

# **Indicadores Biológicos de Qualidade do Solo em Sistemas de Rotação de Culturas Corrigidas com Calcário**

---

SOUZA, R.A.<sup>1</sup>; SILVA, A.P.<sup>2</sup>; BABUJIA, L.C.<sup>3</sup>; STANZANI, E.L.<sup>3,4</sup>; PAULETTI, V.<sup>5</sup>; FRANCHINI, J.C.<sup>1</sup>; HUNGRIA, M.<sup>1</sup>; <sup>1</sup>Embrapa soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-PR; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Biotecnologia; <sup>3</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Química; <sup>4</sup>Bolsista de Iniciação Científica do PIBIC; <sup>5</sup>Fundação ABC, Castro-PR.

A população microbiana do solo representa um papel fundamental na dinâmica de nutrientes em diferentes ecossistemas, afetando as transformações de C, N e P (Díaz-Raviña et al., 1993). Dentre os indicadores do solo capazes de representar a população microbiana, a biomassa microbiana (BM) destaca-se devido à sua relação com a matéria orgânica, a ciclagem de nutrientes e o fluxo de energia (De-Polli & Guerra, 1999). A rotação de culturas, aliada ao manejo correto, faz com que o solo seja biologicamente mais ativo e com maior potencial produtivo (Cattelan et al., 1997).

A calagem e a adubação mineral ou orgânica favorecem o desenvolvimento microbiano de forma direta, pelo aumento do pH e da disponibilidade de nutrientes aos microrganismos, e de forma indireta, pela maior produção vegetal, que acarreta um aumento da atividade rizosférica e dos resíduos adicionados ao solo. Além de aumentar a BM, a elevação do pH pela adição de calcário também pode aumentar a atividade microbiana (Badalucco et al., 1992; Andrade et al., 1995) e a taxa de nitrificação (Fu et al., 1987). Além dos efeitos sobre a fertilidade, a calagem também pode aumentar a estabilidade de agregados e a infiltração de água no solo, mas esses efeitos podem não ser por atuação direta da calagem e, sim, por alterações na atividade dos microrganismos do solo (Roth et al., 1986).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a BM e o pH, em função da aplicação de calcário, em sistemas de rotação de culturas envolvendo a cultura da soja.

As amostras utilizadas foram coletadas em ensaio realizado na Fazenda Experimental da Fundação ABC, no município de Castro, no Paraná. O ensaio foi delineado em blocos ao acaso, com quatro repetições. As coletas foram realizadas antes do plantio (18/11/2004) e após a colheita da soja (05/05/2005), seis e doze meses após a aplicação de calcário, respectivamente. As parcelas receberam doses crescentes de calcário (0,0; 1,6; 3,2 e 6,4 Mg ha<sup>-1</sup>). Foram avaliados os seguintes sistemas de rotação de culturas: aveia/soja, nabo/soja e trigo/soja. O carbono e o nitrogênio da BM do solo (CBM e NBM, respectivamente) foram avaliados pelo método da fumigação-extração, com valores de 0,38 e 0,54 para o quociente de extração de C e N, respectivamente (Brookes et al., 1985; Vance et al., 1987). Os teores de C e N nos extratos foram determinados por espectrofotometria, segundo metodologia descrita por Franchini et al. (2007). Os valores obtidos para a BM foram expressos em µg.mg<sup>-1</sup> solo seco. O pH foi determinado em CaCl<sub>2</sub>, após agitação por 30 minutos a 220 rpm.

Não houve interações entre as doses de calcário e os sistemas de rotação de cultura, porém, separadamente, tanto o calcário quanto a rotação de cultura influenciaram a BM (Tabela 1). Conforme esperado, o pH aumentou com a calagem, embora os valores tenham sido diferentes apenas entre a testemunha e a maior dose de calcário na primeira avaliação, seis meses após a aplicação. Na segunda avaliação, 12 meses após a aplicação do calcário, tanto a acidificação do tratamento sem aplicação de calcário, quanto o aumento da reação do calcário na maior dose, contribuíram para ampliar as diferenças no pH. Em nenhuma amostragem a rotação de culturas teve influência sobre o pH do solo. No caso do CBM, os valores foram bastante elevados antes do plantio, mas as diferenças ocorreram apenas em função do sistema de rotação de culturas. Após a colheita, os valores diminuíram e os efeitos sobre o CBM foram observados apenas para as doses de calcário. O sistema nabo/soja demonstrou estimular o aumento tanto do CBM

quanto do NBM apenas antes do plantio. Assim como ocorreu com o sistema de rotação, o NBM também foi influenciado pelo calcário apenas antes do plantio. Esses resultados indicam que a dinâmica de reciclagem do NBM é mais rápida e mais sensível ao pH do que a do CBM.

O estímulo da calagem ao CBM e ao NBM, mesmo que diferenciado, sugere que com a aplicação da maior dose de calcário, ainda não foram atingidas às condições químicas do solo que pudessem inibir o desenvolvimento de grupos específicos de microrganismos, como observado por Andrade et al. (1995).

É importante ressaltar que a presença de resíduos vegetais na superfície, proveniente das culturas de inverno, contribuiu para o aumento do C e N disponíveis para os microrganismos, aumentando a atividade microbiana, potencialmente ativa nos processos de decomposição da matéria orgânica e alterando a BM. Com o aumento da atividade microbiana, aumenta-se a taxa de mineralização e a velocidade de ciclagem de nutrientes, com uma correspondente imobilização de nutrientes pela BM. Isso demonstra que a BM é muito sensível às alterações nas formas de C e N orgânico do solo em função das mudanças químicas (calagem) e biológicas (sistemas de rotação).

**TABELA 1.** Valores de pH, carbono (CBM) e nitrogênio (NBM) microbiano, sob diferentes sistemas de rotação de culturas e doses de calcário, avaliados antes do plantio e após a colheita da soja. Embrapa Soja, 2007.

Doses de calcário Mg.ha <sup>-1</sup>	Antes do Plantio			Após a colheita		
	pH	CBM µgC.mg <sup>-1</sup>	NBM µgN.mg <sup>-1</sup>	pH	CBM µgC.mg <sup>-1</sup>	NBM µgN.mg <sup>-1</sup>
0	5,08 <sup>b*</sup>	1509 <sup>a</sup>	140 <sup>b</sup>	4,96 <sup>c</sup>	563 <sup>b</sup>	99 <sup>a</sup>
1,6	5,34 <sup>ab</sup>	1536 <sup>a</sup>	157 <sup>ab</sup>	5,34 <sup>b</sup>	583 <sup>ab</sup>	106 <sup>a</sup>
3,2	5,48 <sup>a</sup>	1593 <sup>a</sup>	161 <sup>ab</sup>	5,38 <sup>b</sup>	646 <sup>ab</sup>	110 <sup>a</sup>
6,4	5,67 <sup>a</sup>	1509 <sup>a</sup>	178 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>	752 <sup>a</sup>	106 <sup>a</sup>
Rotação de culturas						
Aveia/soja	5,31 <sup>a</sup>	1419 <sup>b</sup>	137 <sup>b</sup>	5,32 <sup>a</sup>	656 <sup>a</sup>	101 <sup>a</sup>
Nabo/soja	5,43 <sup>a</sup>	1676 <sup>a</sup>	185 <sup>a</sup>	5,33 <sup>a</sup>	617 <sup>a</sup>	103 <sup>a</sup>
Trigo/Soja	5,44 <sup>a</sup>	1515 <sup>b</sup>	155 <sup>b</sup>	5,29 <sup>a</sup>	619 <sup>a</sup>	105 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

As transformações ocorridas no ambiente do solo após a correção e o plantio de diferentes espécies foram refletidas na biomassa microbiana solo, o que qualifica esse parâmetro como um sensível indicador de qualidade do solo.

## Referências

- ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A.; PAVAN, M.A.; BALOTA, E.L.; CHAVES, J.C.D. Atividade microbiana em função da calagem em um solo cultivado com cafeeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.19, p.191-196, 1995.
- BADALUCCO, L.; GREGO, S.; DELL'ORCO, S.; NANNIPIERI, P. Effect of liming on some chemical, biochemical and microbiological properties of acids soils under spruce (*Picea abies* L.). *Biology Fertility Soil*, v.14, p.76-83, 1992.
- BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S., Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, Oxford, v.17, p.837-842, 1985.
- CATTELAN, A.J.; GAUDÊNCIO, C.A.; SILVA, T.A. Sistemas de rotação de culturas em plantio direto e os microrganismos do solo, na cultura da soja, em Londrina. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.21, p.293-301, 1997.
- CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.14, p.133-142, 1990.
- DE-POLLI, H. & GUERRA, J.G.M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A. de O. (ed.). *Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre, Gênese, 1999. cap.17, p.389-411.

DÍAZ-RAVIÑA, M.; ACEA, M.J. & CARBALLAS, T. Microbial biomass and its contribution to nutrient in forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, v.25, p.25-31, 1993.

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop-rotation systems in southern Brazil. *Soil Tillage Research*, 92:18-29, 2007.

FU, M.H.; XU, X.C.; TABATABAI, M.A. Effect of pH on nitrogen mineralization in crop-residue-treated soils. *Biology Fertility Soils*, v.5, p.115-119, 1987.

ROTH, C.H.; PAVAN, M.A.; CHAVES, J.C.D.; MEYER, B.; FREDE, H.G. Efeitos das aplicações de calcário e gesso sobre a estabilidade de agregados e infiltrabilidade de água em um latossolo roxo cultivado com cafeeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.10, p.163-166, 1986.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*, v.19, p.703-707, 1987.

# Composição Centesimal e Teor de Isoflavonas da Soja Verde Colhida em diferentes horas do dia

SANTANA, A.C.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, G.A.B DE.<sup>2</sup>; CARRÃO-PANIZZI, M.C.<sup>3</sup>; MANDARINO, J.M.G.<sup>3</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – DCTA/CCA, Caixa Postal 6001, CEP 86051-970 - Londrina – PR, cristina@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>Universidade Norte do Paraná – UNOPAR; <sup>3</sup>Embrapa Soja.

## Introdução

Soja verde, edamame, soja tipo hortaliça ou tipo vegetal (Fig. 1) são diferentes denominações para a soja colhida com os grãos totalmente desenvolvidos, mas ainda verdes. Na Embrapa Soja, há um programa de melhoramento genético que visa à obtenção de cultivares que apresentem grãos grandes, sabor suave e vagens com pouca pubescência, que são características especiais para esse tipo de produto. Como resultado desse programa, a Embrapa Soja lançou a cultivar BRS 267, que pode ser utilizada para a produção de soja verde. As características sensoriais (aparência, sabor, aroma e textura) influenciam a comercialização da soja verde. Após o cozimento, essas características podem variar de acordo com o genótipo, horário de colheita e ambiente (MBUVI & LITCHFIELD, 1995). O horário do dia no qual é feita a colheita também influencia na qualidade da soja verde (MASUDA, 1991). Durante o dia ocorre alteração na composição dos aminoácidos, açúcares, isoflavonas (KONOVSKY, 1994). Logo, torna-se necessária uma avaliação sobre horário de colheita para se obter um produto de melhor qualidade. O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a melhor hora do dia para a colheita da soja verde a partir da determinação da composição centesimal e o teor de isoflavonas da cultivar BRS 267, colhida no estádio R6.



## Material e Métodos

Em fevereiro de 2007, foram colhidos grãos da cultivar BRS 267, em estádio R6 (totalmente desenvolvidos, mas ainda imaturos) (Fig. 1), em diferentes horas do dia (8:30, 10:30, 13:30 e 15:30). Os grãos foram analisados quanto a sua composição centesimal e teor de isoflavonas. As proteínas foram analisadas pelo método de micro Kjeldahl, os lipídios por extração em destilador de Soxhlet (AOCS, 1995), a umidade pelo método gravimétrico (AOCS, 1988), as cinzas pelo método AOAC ref. 10 n° 31.013 e os carboidratos totais por diferença  $[100 - (\text{proteínas} + \text{lipídios} + \text{cinzas} + \text{umidade})]$ . A separação e a quantificação das isoflavonas foram realizadas em coluna de fase reversa do tipo ODS C18 (YMC Pack ODS-AM) utilizando-se um cromatógrafo líquido da marca Waters, modelo 2690, com injetor automático de amostras. Para a separação das isoflavonas foi utilizado o sistema de gradiente linear binário tendo-se como fases móveis metanol contendo 0,025% de ácido trifluoroacético - TFA (solvente A) e de H<sub>2</sub>O destilada deionizada ultrapura contendo 0,025% de TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 20% para o solvente A e 80% do solvente B atingindo-se 80% do solvente A e 20% do solvente B em 35 min, retornando para a condição inicial (20%A:80%B) aos 40min permanecendo nessa condição até 50 min. O tempo total de corrida foi de 50 min. A vazão da fase móvel foi de 1 mL/min e a temperatura durante a corrida foi de 25 °C. Para a detecção das isoflavonas foi utilizado o detector de arranjo de foto diodo da marca Waters, modelo 996, ajustado para o comprimento de onda de 260 nm. A quantificação das isoflavonas foi feita por padronização externa de acordo com a metodologia preconizada por Berhow, 2002. As análises foram feitas com três repetições e cada repetição com uma replicata, sendo o resultado a média aritmética dessas medidas. Em todos os horários de colheita a temperatura e a umidade relativa foram monitoradas utilizando-se um termigráfo a fim de se obter informações quanto ao ambiente no momento de colheita.

## Resultados e Discussões

Na Fig. 2, são apresentados os dados do teor de isoflavonas em relação à hora no dia da colheita. Ocorreu uma concentração máxima de isoflavonas (150,16 mg/100g ) às 15h30, e uma concentração mínima (103,16 mg/100g) às 10h30.

A composição centesimal apresentou uma pequena variação nas diferentes horas de colheita (Tabela 1). Os resultados mostram que as proteínas e os lipídios já estão formados em R6. Resultados semelhantes foram reportados por Crancianinov et al., (2005), isso demonstra que a soja verde apresenta valor nutricional semelhante ao da soja madura.

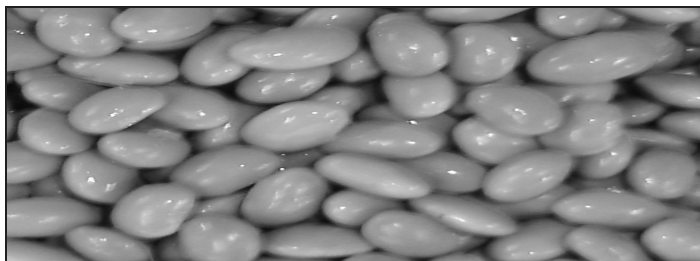
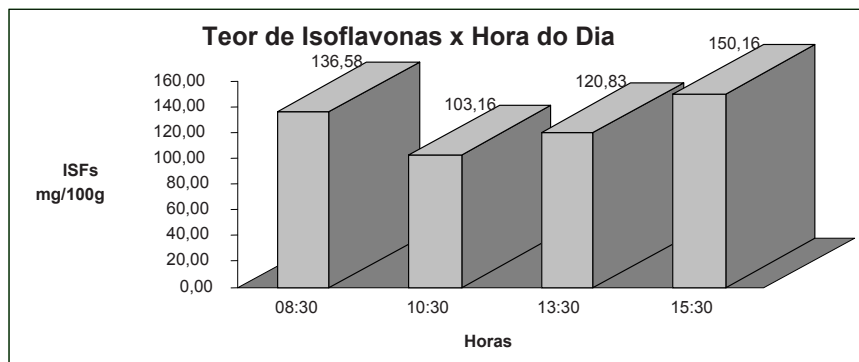
**Tabela 1.** Composição centesimal da cultivar BRS 267 em estágio R6 em diferentes horas de colheita.

COMPONENTES	HORÁRIO COLHEITA			
	8:30	10:30	13:30	15:30
% Umidade	58,58	58,52	58,12	54,32
% Cinzas	1,94	1,99	1,99	1,95
% Carboidratos	13,66	14,03	14,66	17,98
% Lipídios	9,03	8,81	8,19	8,74
% Proteína	16,79	16,65	17,04	17,01

Com base nos resultados obtidos observou-se que as isoflavonas, assim como as proteínas, alteram a sua concentração nos diferentes horários, sendo que à tarde, quando a temperatura é maior (30 °C) e a umidade relativa é menor (60 %), houve maior teor dos compostos (Tabela 2).

**Tabela 2:** Temperatura e umidade relativa durante as horas de colheita

Horas	Temperatura (°C)	Umidade Relativa
8h30	22	92 %
10h30	25	85%
13h30	30	60%
15h30	30	60%

**Fig. 1:** Sementes da cultivar BRS 267 colhida em estágio R6 após processo de branqueamento**Fig. 2.** Variação do teor de isoflavonas (mg/100g) em diferentes horas de colheita

## Conclusões

Dados preliminares indicam que os teores de isoflavonas e proteínas foram favorecidos na colheita da soja verde à tarde (15h30). Porém, estudos complementares devem ser conduzidos para avaliar outros componentes, tais como aminoácidos, açúcares, dentre outros, que são relevantes para uma caracterização adequada do produto.

## Referências

FOOD labeling: general requirements for health claims for food. **Fed Registration**. v. 56, p. 60537-60566, 1991.

BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (Ed.). **Flavonoids in the living cell**. New York: Klusher Academic, 2002. p.61-76.

AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 3. ed. Champaign, 1988. v.1-2.

CRANCIANINOV, W.S.; FREITAS, A.M.; SANTANA, A.C.; MANDARINO, J.M.G.; CARRÃO-PANIZZII, M.C. Composição química de soja verde para consumo como hortaliça. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 6., 2005, Campinas. Sessão/Tema: Química e Análise de Alimentos.

KONOVSKY, J.; LUMPKIN, T.A.; McCLARY, D.; Edamame: the vegetable soybean. In: O'ROURKE, A.D. (Ed.). **Undersatanding the japanese food and greenmarket: a multifaceted opportunity**. Brighampton: Haworth Press, 1994, p.173-181.

MASUDA, R. Quality requeriment and improvement of vegetable soybean. In: SHANMUNGASUNDARAM, S. (Ed.). **Vegetable soybean: research needs for production and quality improvement**. Kenting: Asian Vegetable Research and Development Center, 1991. p.92-102. (Publication, 91-346)

MBUVI, S. W. & LITCHFIELD, J.B. **Green soybeans as vegetable**: comparing green soybeans with green peas and lima beans, and maximized harvest time determinations using mathematical modeling. Journal of Vegetable Crop Production, v.1, p. 1-99. 1995

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 920. 39, C). Arlington: A. O. A. C., 1995, chapter 33. p. 10 -12

# Filogenia dos Genes *gltA* e *glnII* como Suporte para a Classificação de Espécies no Gênero *Rhizobium*

RIBEIRO, R.A.<sup>1,2</sup>; BARCELLOS, F.G.<sup>1</sup>; HUNGRIA, M.<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>Embrapa Soja, Londrina, Caixa Postal 231, CEP 86001-970; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Londrina, PR, e-mail: renanribeiro83@hotmail.com

## Introdução

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é originário das Américas e os grãos dessa leguminosa representam uma fonte importante de proteína, principalmente para a população mais pobre na América Latina [6, 8].

No Brasil, a falta de tecnologia e o cultivo em solos marginais, devido ao baixo retorno econômico da cultura, contribuem para a queda na produtividade do feijoeiro e, nesse contexto, o fornecimento adequado de nutrientes, particularmente o nitrogênio (N) e o fósforo (P), podem proporcionar o aumento na produtividade. O N necessário para a cultura pode ser obtido de três formas: diretamente do solo, por meio do uso de fertilizantes nitrogenados ou pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). O processo de FBN ocorre pela simbiose com bactérias denominadas rizóbios, as quais são atualmente utilizadas como inoculantes.

A classificação atual dos rizóbios é definida como: Domínio: *Bacteria*; Filo: *Proteobacteria*; Classe: *Alfaproteobacteria*; Ordem: *Rhizobiales*; e distribuídos nas famílias *Rhizobiaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Bradyrhizobiaceae* e *Hiphomicrobiaceae* [3]. A classe *Alfaproteobacteria* é dividida em sete gêneros: *Devosia*, *Azorhizobium*, *Methylobacterium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* e *Sinorhizobium*, classificados a partir da análise do gene ribossomal 16S, sendo observada uma maior relação entre os três últimos gêneros [10].

Inicialmente, os rizóbios que nodulam o feijoeiro foram classificados em uma única espécie, *R. phaseoli* que, em 1984, passou a ser denominada como *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*. [7]. Contudo, havia indicação de subdivisão em dois grupos, denominados tipo I e tipo II, com base em características fisiológicas e genéticas. Desse modo, em 1991 Martinez-Romero e colaboradores definiram as estirpes do grupo II como uma nova espécie, *R. tropici*, subdividida em tipo IIA e IIB, e que tiveram as estirpes CFN 299 e CIAT 899, respectivamente, determinadas como estirpes padrão [12]. Dois anos depois, por meio de análise da sequência de nucleotídeos do gene 16S RNAr, foi sugerido que alguns rizóbios isolados em solos americanos e inicialmente classificados como pertencentes ao tipo I, fossem reclassificados em uma nova espécie, *Rhizobium etli*, a qual possui a estirpe CFN 42 como padrão [15]. Essa nova espécie, junto com a espécie de *R. leguminosarum*, pertencente ao grupo I, possui uma alta correlação, tanto para alguns genes simbióticos como para algumas regiões cromossômicas, indicando a possibilidade de ter ocorrido uma transferência do plasmídeo simbiótico de *R. etli* para *R. leguminosarum* [6]. Finalmente, em 1997 duas novas espécies de microssimbiontes do feijoeiro foram descritas, *R. gallicum* e *R. giardinii* [1]. Desse modo, existem hoje cinco espécies descritas como microssimbiontes do feijoeiro: *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* [7], *R. tropici* [12], *R. etli* [15], *R. gallicum* e *R. giardinii* [1]. Todas essas espécies, exceto *R. gallicum*, já foram detectadas em solos brasileiros [5, 13, 14].

Atualmente, a filogenia do gênero *Rhizobium*, assim como ocorre em outros procariotos, é baseada no gene ribossomal 16S [3, 18], embora vários estudos tenham demonstrado que esse gene pode, ocasionalmente, sofrer transferência horizontal e recombinação genética, resultando em sequências mosaicas [11]. Essas observações implicam que a análise filogenética bacteriana, com base exclusivamente no DNA ribossomal 16S, pode nem sempre refletir de modo preciso a filogenia dos procariotos. Com o objetivo de minimizar esses efeitos, foi proposta a técnica de MLSA (*Multilocus Sequence Analysis*), que utiliza mais de um *locus* gênico, resultando em uma análise mais precisa, e com isso surge a importância da busca de novos genes que possam ser utilizados como mar-

cadores filogenéticos. Um estudo recente com o gênero *Sinorhizobium*, realizado por Martens et al. [11], demonstrou que a técnica de MLSA, utilizando cinco genes conservados (*housekeeping*), foi mais apropriada para a classificação de bactérias desse gênero quando comparada à análise exclusivamente com o gene ribossomal 16S. Zeigler [17], inclusive, sugeriu que a análise de menos de cinco genes já seria suficiente para uma classificação confiável.

Com o objetivo de obter marcadores filogenéticos alternativos em estudos de filogenia e taxonomia dentro do gênero *Rhizobium*, foram analisados os genes conservados *glnII* e *gltA* e comparados aos resultados obtidos com o gene ribossomal 16S.

Para este trabalho foram utilizadas 16 estirpes isoladas de solos brasileiros e previamente identificadas como pertencentes ao grupo de *Rhizobium tropici* tipo A, *R. tropici* tipo B (identificadas como muito eficazes na fixação de nitrogênio) e *R. etli.*, todas provenientes da “Coleção de Culturas de Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas” do laboratório de Biotecnologia de Solo da Embrapa Soja. Foram utilizadas também as estirpes-tipo das espécies descritas como microssimbiontes do feijoeiro.

A extração de DNA das estirpes foi realizada conforme já descrito [2] e para a amplificação por PCR (Polymerase Chain Reaction), foram utilizados dois genes housekeeping: *gltA* (citrato sintetase) e *recA* (recombinase A), além do gene 16S. As amplificações foram conduzidas conforme descrito por Martens et.al. [11]. O resultado da amplificação foi verificado pela visualização dos fragmentos, sob radiação UV, em gel de agarose a 1 %, corado com brometo de etídeo. Os produtos de PCR foram purificados com o kit “QIAquick” (QIAGEN), de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, os produtos purificados foram submetidos à reação de sequenciamento pelo método de Sanger, com o uso do kit “DYEnamic™ ET dye terminator cycle sequencing (GE Healthcare). Os primers utilizados para as reações de PCR foram os descritos anteriormente para as reações de PCR. As sequências obtidas foram analisadas com o auxílio dos programas phredPhrap versão 0,990722 (1993-2000) e examinadas manualmente.



Finalmente, foi realizado alinhamento múltiplo das sequências com o uso do programa ClustalX versão 1.83 e a partir disso foram construídas três árvores filogenéticas separadamente, uma para cada um dos três genes. As árvores filogenéticas foram geradas com o uso do programa MEGA versão 3.1 [9]. Para a construção das árvores foram realizadas as análises de “Neighbor joining” (NJ), utilizando o método de Kimura-2 para cálculo de distância e suporte estatístico considerando um valor de *bootstrap* com 1000 repetições.

Os tamanhos dos fragmentos obtidos por PCR utilizados para a análise foram: 1410 pb para o gene 16S, 602 pb para o gene *gltA* e 415 pb para o gene *recA*. Todos os genes utilizados foram discriminantes para as estirpes utilizadas.

Para a construção das árvores filogenéticas, com os três genes analisados, foram utilizadas as sequências de 16 estirpes, além de uma outra estirpe de *Caulobacter crescentus* utilizada como outgroup. Um grupo com as estirpes de *R. tropici* tipo A e B, incluindo as estirpes padrões, foi formado com altos valores de *bootstrap* (84 % a 100 %) para todos os 3 genes, confirmando a alta relação genética desses organismos, embora algumas estirpes apresentassem, conforme o gene analisado, posições diferentes dentro dos subgrupos. Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Pinto et. al. [14], em que foi encontrada essa mesma relação entre essas estirpes microssimbiontes de feijoeiro, por meio de análise de PCR-RFLP e seqüenciamento do gene ribossomal 16S.

Quatro estirpes denominadas como *R. etli* (estirpes 72, 74, 206 e 209) foram analisadas anteriormente por Grange & Hungria [5], por ERIC-PCR, seguida por RFLP-PCR e seqüenciamento parcial do gene ribossomal 16S. Para as estirpes 72, 74 e 209 foram encontrados resultados congruentes, como agrupamento, em todas as árvores analisadas, com um alto valor de *bootstrap* (99 % a 100 %), embora elas não tenham sido agrupadas com a estirpe padrão da espécie (CFN 42) e, também, com nenhuma outra estirpe-padrão. O mesmo ocorreu com a estirpe 206, que não obteve correlação significativa com nenhuma estirpe-padrão de

*Rhizobium* e com nenhuma outra estirpe estudada, sugerindo que estas estirpes possam pertencer a uma outra espécie de *Rhizobium*.

Além disso, este trabalho ajudou a corroborar os resultados obtidos por Gaunt et al. [4] e Zakhia & Lajudie [16], que também encontraram uma alta relação entre as estirpes de *R. etli* e *R. leguminosarium*, em que essas duas estirpes agrupadas apresentaram valores de *bootstrap* de 90 % a 100 %.

A partir dos resultados obtidos, observa-se que os dois genes utilizados neste trabalho podem ser utilizados com confiança para estudos de filogenia e taxonomia dentro do gênero *Rhizobium*, pois demonstraram resultados congruentes quando comparados com o gene ribossomal 16S.

## Referências

- [1] AMARGER, N., MACHERET, V., IAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. International Journal of Systematic Bacteriology, v. 47, p. 996–1006, 2007.
- [2] Fernandes, M.F., Fernandes R.P.M., Hungria, M. Caracterização genética de rizóbios nativos dos tabuleiros costeiros eficientes em culturas do guandu e caupi. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 38, p. 911-920, 2003.
- [3] GARRITY, G.M., HOLT, J.G. The road map to the Manual. In: KRIEG, N.R., HOLT, J.G. (Ed.) Bergey's manual of systematic bacteriology. 2 ed., Baltimore: The Williams & Wilkins, p. 119-154, 2001.
- [4] Gaunt, M.W., Turner, S.L., Rigottier-Gois, L., Lloyd-Macgilp, S.A., Young, J.P. Phylogenies of *atpD* and *recA* support the small subunit rRNA-based classification of rhizobia. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 51, p. 2037-2048, 2001.
- [5] GRANGE, L., HUNGRIA, M. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris*) rhizobia in two Brazilian ecosystems. Soil Biology & Biochemistry, v. 36, p. 1389-1398, 2004.

- [6] HUNGRIA, M., ANDRADE, D.S., CHUEIRE, L.M.O., GUTIERREZ-MANERO, F.J., MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 21, p. 1515–1528, 2000.
- [7] JORDAN, D.C. *Rhizobiaceae* Conn. In: Krieg, N.R., Holt, J.G. (Ed.). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore : Williams & Wilkins, p. 235-244, 1984.
- [8] Kaschuk, G., Hungria, M., Andrade, D.S., Campo, R.J. Genetic diversity of rhizobia associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under no-tillage and conventional systems in Southern Brazil. *Soil & Tillage Research*, v. 32, p. 210-220, 2006.
- [9] KUMAR, S., TAMURA, K., NEI, M. Mega 3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment, *Briefings in Bioinformatics*, v. 5, p. 150-163, 2004.
- [10] Lloret, L., Romero, E.M. Evolución y filogenia de *Rhizobium*. *Revista latinoamericana de Microbiología*, v. 47, p. 43-60, 2005.
- [11] Martens, M., Delaere, M., Coopman, R., Vos, de P., Gillis, M., Willems, A. **Multilocus sequence analysis of *Ensifer* and related taxa**. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*. v. 57, p. 489-503, 2007.
- [12] Martinez-Romero, E., Segovia, L., Mercante, F. M., Franco, A.A., Graham, P., Pardo, M. A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. Trees. *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology*. v. 41, p. 417-426, 1991.
- [13] Mostasso, L., Mostasso, F.L., Dias B.G., Vargas, M.A.T., Hungria, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. *Field Crops Research*, v. 73, p. 121-132, 2002.
- [14] PINTO, F.G.S., Hungria, M., MERCANTE, F.M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N<sub>2</sub> with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Soil Biology & Biochemistry*, v. 39, p. 1851-1864, 2007.

[15] Segovia, L., Martinez-Romero, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarium* biovar *phaseoli* type I strain as *Rhizobium etli* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 43, p. 374-377, 1993.

[16] ZAKHIA, F., LAJUDIE, de P. Taxonomy of rhizobia. Agronomie, v. 25, p. 569-576, 2001.

[17] Zeigler, D.R. Gene sequences useful for predicting relatedness of whole genomes in bacteria. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 53, p. 1893-1900, 2003.

[18] WEISBURG, W.G., BARNS, S.M., PELLETIER, D.A.; LANE, D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of Bacteriology, v. 173, p. 697-703, 1991.

# **Biomassa Microbiana em Sistemas de Manejo do Solo e de Culturas Típicas da Região Norte do Paraná**

---

SILVA, A.P.<sup>1</sup>; SOUZA, R.A.<sup>2</sup>; BABUJIA, L.C.<sup>3</sup>; NEVES, M.C.P.<sup>2</sup>; FRANCHINI, J.C.<sup>2</sup>; HUNGRIA, M.<sup>2</sup>;

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Biotecnologia, Caixa Postal, 6001, 86051-970, Londrina-PR; <sup>2</sup>Embrapa soja, Londrina-PR; <sup>3</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Química

Os sistemas de manejo do solo e das culturas interferem no equilíbrio existente entre o solo e os organismos que nele habitam. Tem sido observado que práticas agrícolas conservacionistas que promovem a cobertura vegetal do solo como o sistema de semeadura direta, mais comumente conhecido como plantio direto (PD), pode resultar em maior produtividade, associado à qualidade do solo e à sustentabilidade dos agroecossistemas. Além do PD, os sistemas de rotação de culturas também podem incrementar a biomassa microbiana (BM) tanto quantitativamente quanto qualitativamente, favorecendo alguns grupos de microrganismos de importância agrícola como bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> (Hungria et al., 2000) e fungos micorrízicos (Colozzi-Filho e Balota, 1999).

Além disso, alterações quantitativas e qualitativas na BM do solo podem refletir em mudanças na qualidade do solo, num estágio anterior ao das mudanças em parâmetros químicos e físicos, sendo por isso a BM considerada um bom parâmetro para avaliar a qualidade do solo (Franchini et al., 2007). Entretanto, é essencial obter um maior conhecimento referente os efeitos dos diferentes sistemas de manejo do solo e rotação de culturas sobre a microbiota do solo.

Neste contexto, ensaios de longa duração são importantes para definir parâmetros estáveis relacionados à sustentabilidade agrícola, bem como

para a avaliação criteriosa do efeito de diferentes sistemas agrícolas nas propriedades do solo. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar quantitativamente a microbiota do solo como parâmetro indicador de qualidade e sustentabilidade agrícola, em áreas sob cultivo de soja submetidas a diferentes sistemas de manejo do solo e de culturas.

O ensaio de campo foi estabelecido em 1997, na estação experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial, com 2 manejos de solo, 3 sistemas de culturas e 4 repetições. Foram comparados os efeitos dos sistemas de plantio direto (PD), plantio convencional com arado de disco (PC) e sistemas de rotação de culturas incluindo culturas de grãos (soja, milho e trigo) e de cobertura e adubação verde (tremoço e aveia preta). Os sistemas de rotação avaliados foram constituídos nas duas últimas safras de inverno e verão por: aveia/soja/pousio/milho (Av/Sj/Ps/Mi); tremoço/milho/pousio/milho (Tm/Mi/Ps/Mi); aveia/milho/pousio/milho (Av/Mi/Ps/Mi). A área permaneceu em pousio no último inverno em virtude de uma seca intensa que inviabilizou as culturas na estação.

O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM) foram determinados em amostras coletadas no dia 18/01/2007, o que correspondeu ao estágio de pleno florescimento do milho. Cinco subamostras foram coletadas na camada de 0 cm -10 cm, homogeneizadas e combinadas para compor uma amostra por parcela. A biomassa microbiana do solo foi avaliada pelo método da fumigação-extração, com valores de 0,38 e 0,54 para o quociente de extração de C e N, respectivamente (Brookes et al., 1985; Vance et al., 1987). Os teores de CBM e NBM nos extratos foram determinados por espectrofotometria, segundo a metodologia descrita por Franchini et al. (2007). Os valores obtidos para a BM foram expressos em  $\mu\text{g}$  de C ou N da biomassa microbiana. $\text{g}^{-1}$  de solo seco.

Os resultados obtidos estão na Tabela 1. A BM foi influenciada pelos sistemas de manejo do solo e de rotação de culturas de forma diferenciada. Quando considerados os sistemas de manejo, tanto o CBM quanto o NBM foram superiores no sistema PD em relação ao PC. Em média os

aumentos foram de 18 % e 50 %, para CBM e NBM, respectivamente. No caso do CBM a diferença entre os sistemas de manejo foi observada apenas quando considerada a média dos sistemas de rotação, enquanto para o NBM, a superioridade do PD foi observada em todos os sistemas de rotação. Em relação aos sistemas de rotação de culturas foram observados comportamentos distintos para o CBM e para o NBM. O sistema de rotação Av/Sj/Ps/Mi proporcionou aumentos no CBM em relação ao sistema Av/Mi/Ps/Mi, embora esse efeito tenha sido significativo apenas no sistema PD. Para o NBM, como mencionado anteriormente, ocorreu o inverso, com o sistema Av/Mi/Ps/Mi apresentando maiores teores que os sistemas Av/Sj/Ps/Mi no PD e Tm/Mi/Ps/Mi no PC. Contudo, na média dos sistemas de rotação de culturas, o sistema Av/Mi/Ps/Mi proporcionou aumento significativo do NBM em relação aos demais sistemas.

A maior quantidade de BM em PD é relevante, particularmente considerando a ciclagem de C e N. Isso evidencia que em áreas não perturbadas, com manutenção de resíduos vegetais na superfície, há maior imobilização de C e N pela biomassa microbiana, em concordância com resultados obtidos em outros estudos comparando o PD e PC (Balota et al., 1998; Franchini et al., 2007).

Com relação aos sistemas de rotação de culturas verificou-se que a presença de uma única leguminosa, soja ou tremoço, nos sistemas Av/Sj/Ps/Mi e Tm/Mi/Ps/Mi, respectivamente, foi o suficiente para favorecer a imobilização de C na BM, enquanto a presença de gramínea no sistema Tm/Mi/Ps/Mi favoreceu a imobilização de N na BM.

Os resultados obtidos confirmam que a biomassa microbiana do solo é um parâmetro sensível às alterações provocadas pelos sistemas de manejo do solo e das culturas, demonstrando sua utilidade como indicador de qualidade do solo e da dinâmica de C e N.

**Tabela 1.** Carbono e nitrogênio microbiano (CBM e NBM, respectivamente -  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de solo seco) em sistemas de manejo do solo e de rotação de culturas.

Preparo das mudas	Preparo da área	Plantio	Manejo	Colheita	Transporte
Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra
Sementes	Trator	Adubação	Tratos fitossanitários		Caminhão
Adubação	Combustível		Adubação		Combustível
Tratos fitossanitários					
Irrigação					

<sup>(1)</sup> PD: Plantio direto; PC: Plantio convencional

<sup>(2)</sup> Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

<sup>(3)</sup> Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## Referências

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p.641-649, 1998.

BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S., Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.17, p.837-842, 1985.

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E.L. Plantio direto: microrganismos e processos. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.; FAQUIN, V.; FURTINNI, A.E.; CARVALHO, J.G., (Ed.) **Soil fertility, soil biology and plant nutrition interrelationships**. Lavras: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p.487-508.



FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop-rotation systems in southern Brazil. **Soil Tillage Research**, v.92, p.18-29, 2007.

HUNGRIA, M. Características biológicas em solos manejados sob plantio direto. In: Reunión de la Red Latinoamericana de Agricultura Conservacionista, 5., 1999, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: EPAGRI, 2000. 15p. 1CD Room.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, p. 703-707, 1987.

# **Otimização do Processo de Produção de Bio-Óleo na Miniusina Instalada na Embrapa Soja.**

---

FELICI, P.H.N.<sup>1</sup>; BORGES, J.L.B.<sup>1</sup>; ÁVILA, M.T.<sup>2</sup>; GAZZONI, D.L.<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, CCA/Agronomia, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina-PR, phfelici@yahoo.com.br, <sup>2</sup>Embrapa Soja.

As principais vantagens da rota de craqueamento comparada à transesterificação são não produzir glicerol como subproduto, não utilizar álcool no processo, menor custo de investimento fixo inicial e relativa facilidade de operação, o que torna o processo particularmente adaptável para produção de biocombustíveis derivados de óleos vegetais ou gorduras animais, em pequena e média escala (Gazzoni & Felici, 2006).

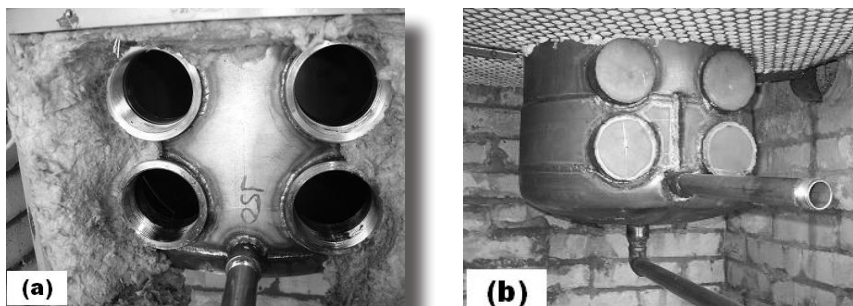
O protótipo desenvolvido em parceria com a GET foi instalado e está sendo avaliado na unidade da Embrapa Soja, sendo objeto de constantes melhorias visando à produção de bio-óleo dentro das especificações da ANP para diesel de petróleo. Igualmente, objetiva-se transformar o protótipo em um equipamento comercial com características de solidez, resistência, durabilidade e facilidade de operação.

Os testes realizados identificaram problemas de especificação do biocombustível obtido, de segurança e de operação. Foram introduzidas melhorias para reduzir as perdas de calor e para eliminar os vazamentos nas junções do reator e da torre. Os voláteis resultantes do processo estão sendo coletados, condensados, lavados e incinerados. Também a estrutura do equipamento e a sua operação estão sofrendo ajustes e alterações para atendimento das especificações da ANP. As principais mudanças estruturais serão descritas a seguir:

Fonte de energia para o craqueamento: no início dos testes (Junho/2006), o óleo era levado à temperatura de craqueamento por meio de quatro resistências elétricas, inseridas no reator por meio de quatro orifícios (Fig. 1a). Verificou-se, após os testes, que não ocorria um aquecimento homogêneo do óleo, pois a porção inferior do reator permanecia à temperatura ambiente enquanto o topo atingia a temperatura de craqueamento (405°C). As amostras de bio-óleo apresentavam alta viscosidade, solidificando-se à temperatura ambiente. Supõe-se que na superfície de contato do envoltório das resistências com o óleo vegetal a temperatura era muito elevada, provocando vaporização instantânea das substâncias geradas pelo craqueamento. Entretanto, a massa de óleo mais distante não recebia calor suficiente, gerando desuniformidade térmica e problemas de especificação do material craqueado.

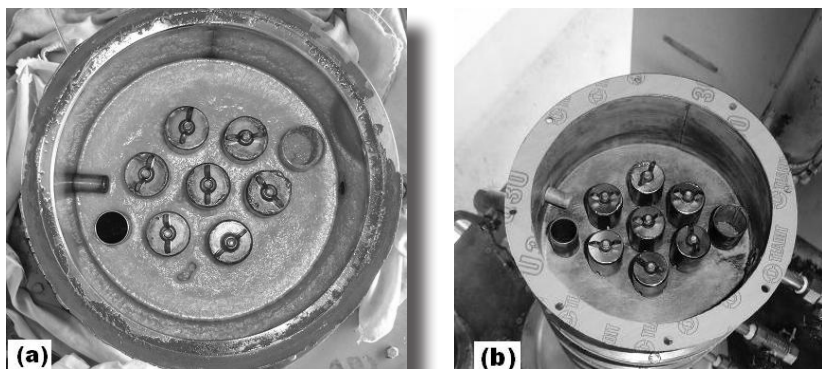
Vazamentos no encaixe das resistências: foram detectados vazamentos na rosca de encaixe da resistência ao reator. Esse problema, bem como os anteriormente citados, foram equacionados com a mudança do sistema de aquecimento do óleo utilizando um queimador a gás.

Implantação do aquecimento a gás: foi instalado um queimador a gás, cuja chama aquece a parte inferior do reator e este, por condução, transfere calor à massa de óleo de forma mais homogênea que com o uso de resistências. Com a implantação do queimador, os orifícios do reator foram vedados (Fig. 1b), impossibilitando vazamentos.



**Fig. 1:** (a) Reator de craqueamento de óleos vegetais com orifícios para entrada das resistências elétricas e (b) reator com orifícios das resistências vedados.

Vazamentos nas juntas da torre de destilação: a torre de destilação apresentava constantes vazamentos nos flanges de conexão entre seus pratos, provocados pelo empenamento dos pratos ou pelo ressecamento do material usado para vedação (Fig. 2a). Testaram-se diversos vedantes existentes no mercado, específicos para altas temperaturas. Solucionou-se o problema com juntas de amianto (Fig. 2b) que, ao serem colocadas nos flanges dos pratos corretamente usinados, vedam-nos completamente, impedindo a passagem das frações líquidas ou gasosas.



**Fig. 2:** (a)Prato da torre de destilação de óleos vegetais com junta de silicone e (b) prato com junta de amianto.

Alta temperatura do combustível coletado: as frações combustíveis obtidas em cada prato são conduzidas através de tubulações, a partir das saídas laterais de cada prato, sendo coletadas em recipientes de 2 litros. Tais tubulações, no início dos testes, apresentavam uma distância de  $\pm 1$  m entre o prato e a coleta, provocando excesso de vapores e gases, bem como alta temperatura dos produtos coletados. A solução foi aumentar o comprimento dos tubos, que passaram a ter um tamanho médio de 9 m, para que durante o caminho a ser percorrido até o reservatório o bio-óleo trocasse calor com o ambiente.

Emissão de voláteis no ambiente: originalmente, o tubo de saída dos voláteis do topo da torre de destilação descarregava os gases diretamente no ambiente, o que provocava fortes odores e irritação das mucosas dos

operadores. Solucionou-se o problema conectando-se o tubo de saída de voláteis a um coletor das frações que se condensavam na própria tubulação e de um segundo coletor com água onde ocorre a lavagem dos gases. No final, a fração gasosa é incinerada.

A cada nova modificação, as amostras coletadas têm apresentado melhorias e o processo de operação da miniusina tem sido otimizado. No entanto, a viscosidade do biocombustível produzido ainda se encontra levemente acima das especificações da ANP e novas mudanças estão sendo incorporadas para solucionar esta não conformidade.

## Referências

GAZZONI, D.L.; FELICI, P.H.N. **Biodiesel para auto-consumo**. Agroanalysis, São Paulo - SP, v. 26, p. 43 - 44, 02 out. 2006.

# **Caracterização da Miniúrsina de Craqueamento de Óleos Vegetais Instalada na Embrapa Soja.**

---

BORGES, J.L.B.<sup>1</sup>; FELICI, P.H.N.<sup>1</sup>; ÁVILA, M.T.<sup>2</sup>; GAZZONI, D.L.<sup>2</sup>; PORTUGAL, F.F.<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, CCA/Agronomia, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina-PR, borges@cnpso.embrapa.br, <sup>2</sup>Embrapa Soja.

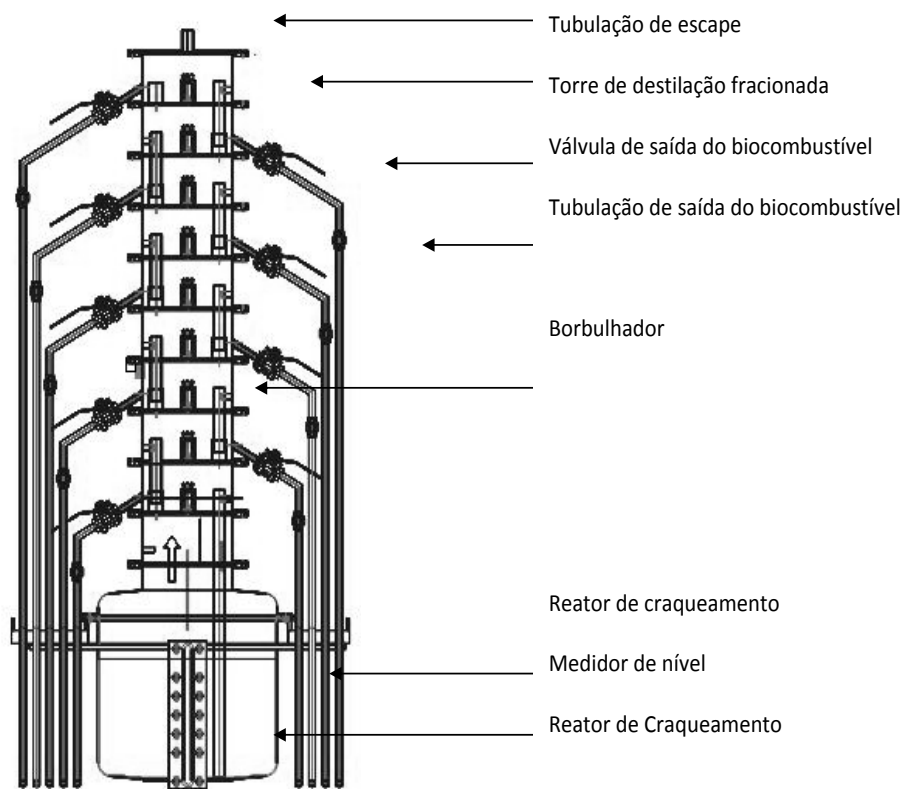
O biodiesel é um combustível produzido de óleos vegetais e gorduras animais, por meio da reação com álcool (transesterificação) ou do aquecimento e destilação com ou sem catalisadores (craqueamento). Pode ser utilizado em qualquer motor de ciclo Diesel que equipam caminhões, ônibus, barcos, trens, máquinas agrícolas ou em geradores de energia elétrica (Rubim e Suarez, 2006).

Para produção de biodiesel, o Brasil possui diversas oleaginosas adaptadas ao clima e solo de cada região. Além de ser um combustível limpo, por não poluir o ambiente, o cultivo de matérias-primas e a fabricação do biodiesel auxiliam na criação de novos empregos na indústria e na agricultura familiar, estimulando a inclusão social, principalmente nas regiões mais pobres do país (Rubim e Suarez, 2006).

A miniúrsina de craqueamento construída na Embrapa Soja, em Londrina-PR, permite a obtenção de biodiesel a partir de qualquer óleo vegetal, permitindo apoiar o desenvolvimento sustentável das regiões menos desenvolvidas do país. Por exemplo, no Semi-Árido poderia ser produzido um combustível a partir do óleo de mamona ou pinhão manso e no Norte, a partir do óleo de dendê.

O craqueamento de óleos vegetais consiste na quebra das moléculas em altas temperaturas, na presença ou não de catalisadores. Os produtos

formados nessa reação são hidrocarbonetos muito semelhantes aos do petróleo, além de compostos oxigenados tais como ésteres, ácidos carboxílicos e aldeídos (Rodrigues, 2007).



**Fig. 1.** Identificação do reator e da torre de destilação da mini-usina de craqueamento de óleos e gorduras da Embrapa Soja.

Este trabalho objetiva descrever a miniusina de craqueamento construída nas dependências da Embrapa Soja, englobando todos os componentes físicos que fazem parte do seu funcionamento.

A invenção é concretizada na forma de um sistema de craqueamento de óleos vegetais ou gorduras animais, compreendendo os seguintes componentes:

O sistema é montado em estrutura de alvenaria, feita em material refratário a fim de se evitar perda de calor (energia). No interior da estrutura de alvenaria estão localizados a fonte de calor (GLP), o reator de craqueamento e a tubulação para transferência de calor para o pré-aquecimento. Entre a parede interna do forno e o reator de craqueamento existe um espaço para garantir uma maior eficiência no processo de aquecimento do craqueador. Acima do reator é montada uma torre de destilação para a separação das frações (Suarez et al., 2002).

O reator é alimentado com óleos vegetais, também podendo ser abastecido com óleos usados ou gorduras animais. O óleo vegetal fica armazenado em um reservatório localizado em um local estratégico, que possibilita o seu envio até o reservatório de pré-aquecimento da miniusina, apenas pela ação da força da gravidade. A alimentação de óleo ao reator é feita através de uma válvula que é comandada manualmente, de acordo com o controlador de nível.

Nesse sistema de craqueamento, o óleo é pré-aquecido por meio do calor dos gases quentes oriundos do queimador usado para aquecimento do reator. Esses gases são levados por uma tubulação que sai do interior da construção de alvenaria e vai até o trocador de calor do pré-aquecedor.

O reator da miniusina da Embrapa Soja tem capacidade para 30 litros, é construído em aço inoxidável e sua porção inferior, onde incide a chama do queimador, é envolvida por uma chapa refratária cuja função é permitir que haja um aquecimento do óleo dentro do reator da maneira mais homogênea possível.

O reator é aquecido por um queimador do tipo industrial, podendo funcionar com um medidor de vazão acoplado para que se possa mensurar a quantidade de GLP consumida pelo sistema reacional. Por meio de um painel previamente programado com as temperaturas mínima, média e máxima desejadas, controla-se a reação, fazendo com que o queimador ligue e desligue automaticamente a chama para que a temperatura se mantenha constante dentro do valor previamente programado.



A torre de destilação é composta por 9 pratos construídos em aço inoxidável, conectados por flanges parafusados.

No interior dos pratos encontram-se pequenas tubulações para a passagem das frações de gases no decorrer do processo, além de borbulhadores no formato de pequenos cilindros que auxiliam a destilação. Um orifício lateral permeia a saída dos combustíveis e uma tubulação mais elevada que as demais, chamada de “ladrão”, que possibilita o retorno do excesso de condensados ao prato inferior. Em cada prato foi instalado um termopar com o intuito de se monitorar e controlar a sua temperatura durante a operação de craqueamento, visto que o equilíbrio dessas temperaturas durante o processo é de extrema importância (Rodrigues, 2007).

As frações combustíveis são conduzidas através de tubulações, a partir das saídas laterais da torre de destilação, para os respectivos reservatórios (boilers), sendo essas saídas controladas por válvulas. Tais tubulações são feitas em aço inoxidável, com comprimento médio de 9 metros, para que durante o caminho a ser percorrido até o reservatório o bio-óleo possa reduzir a temperatura a valores aceitáveis.

Após o nono prato há uma saída para coletar os produtos mais leves, que não são condensados nos pratos da torre. A tubulação passa pelo interior de um recipiente onde os voláteis são condensados. Finalmente, os voláteis passam por um último recipiente que contém água, na qual os gases formados durante a reação são borbulhados e, posteriormente, queimados.

A miniusina encontra-se em processo de aperfeiçoamento, necessitando adaptações para simplificar seu funcionamento e para minimizar os gastos energéticos, como utilizar os próprios gases de saída da torre para o craqueamento. Outra alteração a ser realizada é a troca da estrutura de alvenaria por uma nova estrutura composta de um envoltório de chapas metálicas (ferro e aço), juntamente com uma manta cerâmica que funcionará como isolante térmico.

## Referências

RUBIM, J.C.; SUAREZ, P.A.Z. Alternativa em combustível. Acessoria de comunicação social da UNB. 2006. Disponível em: [www.unb.br/acs/releases/rl0106-15.htm](http://www.unb.br/acs/releases/rl0106-15.htm). Acesso em 27 jul 2007.

RODRIGUES, J.P.; Avaliação da produção de combustível em processo de craqueamento de óleo de soja em sistema contínuo. 2007. 50f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília.

SUAREZ, P.A.Z.; RUBIM, J.C.; MUNDIM, K.C. Sistema de Conversão de Óleos Vegetais, Óleos Usados e Gorduras Animais em Óleos Combustíveis. PI BR 0204019-0, 2002.

# Balanço Energético na Cultura do Dendê para Produção de Biodiesel – Parte Agrícola.

---

BORGES, J.L.B.<sup>1</sup>; FELICI, P.H.N.<sup>1</sup>; ÁVILA, M.T.<sup>2</sup>; GAZZONI, D.L.<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, CCA/Agronomia, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina-PR, borges@cnpso.embrapa.br, <sup>2</sup>Embrapa Soja.

Além das vantagens econômicas e dos benefícios ambientais, a produção de biodiesel em larga escala será importante instrumento de geração de renda no meio rural, com impacto significativo sobre a agricultura familiar. Várias são as culturas viáveis para a pequena propriedade, e dentre elas, destaca-se a cultura do dendê, sendo considerada a oleaginosa de maior produtividade em óleo bruto (Sluszz & Machado, 2006).

A cultura do dendezeiro é praticada com baixo nível de agressão ambiental, estabelecendo rapidamente uma cobertura arbórea e protegendo o solo contra a lixiviação e a erosão. Constitui-se de uma atividade economicamente viável que assegura bons preços nos mercados nacional e internacional, apresentando ainda, baixo custo de produção, estimado em US\$ 250,00 por tonelada de óleo. A cultura dessa oleaginosa absorve mão-de-obra pouco qualificada, perfil da maior parte da população rural da região Amazônica. (Furlan Júnior & Muller, 2004).

De acordo com Lora et al. (2006), a análise da diferença entre a energia consumida (entrada) e a energia produzida (saída), ambas por unidade de área, pode ser uma valiosa ferramenta para a formulação de indicadores de viabilidade técnico-econômica e ambiental na comparação entre diferentes oleaginosas, sendo uma forma de diagnosticar a melhor cultura para a produção de biodiesel.

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*) tem um alto teor de óleo nos frutos, de 55 % a 58 %, e a produtividade é, em média, 3,7 t de óleo por hectare. (Lima et al., 2002).

Ainda segundo os autores, esta é uma cultura perene que começa a produzir comercialmente 3 anos após o plantio, atingindo a produtividade máxima entre os 7 e 12 anos. Produz-se com viabilidade econômica por cerca de 25 anos, quando a coleta dos frutos torna-se antieconômica, devido à altura alcançada pela palma.

Segundo Sluszz & Machado (2006), a região Norte do Brasil é a que apresenta as características climáticas ideais para o cultivo de dendê, sendo os estados do Pará, Amazonas e Amapá, os mais promissores. O Pará já é o maior produtor de óleo de palma do Brasil, concentrando mais de 80 % da área plantada.

Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho é efetuar o balanço energético da cultura do dendezeiro visando à produção de biodiesel, considerando nesses cálculos apenas os gastos durante a atividade agrícola.

As atividades que demandam gasto energético no processo produtivo agrícola e no transporte para a cultura do dendezeiro são mostradas na Tabela 1.

Para os cálculos de conversão energética para a produção de fertilizantes, agrotóxicos e diesel consumido, consideraram-se os valores de Pimentel & Patzek (2005). Esses estudos fornecem a quantidade de energia consumida em kcal por unidade de produto.

**Tabela 1.** Atividades que requerem gastos de energia no cultivo de dendê no Brasil.

Preparo das mudas	Preparo da área	Plantio	Manejo	Colheita	Transporte
Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra	Mão-de-obra
Sementes	Trator	Adubação	Tratos fitossanitários		Caminhão
Adubação	Combustível		Adubação		Combustível
Tratos fitossanitários					
Irrigação					

Segundo Pimentel & Patzek (2005), uma pessoa trabalha em média 2.000 horas anuais, gastando o equivalente em energia a 8.000 litros de óleo diesel. Baseando-se nesse dado, estimou-se o gasto energético com mão-de-obra. Já o cálculo da depreciação de máquinas e equipamentos foi baseado em Pimentel & Pimentel (1996).

Desta maneira, durante o processo agrícola, são necessários 85 homens, de acordo com Lima et al. (2002); assumindo que tenham uma jornada de trabalho de 8 horas diárias, durante 300 dias por ano, o equivalente energético é de 6.800.000 kcal.

A adubação do dendezeiro varia de acordo com os níveis de deficiência do nutriente e a idade de plantio; note-se que o potássio é o nutriente mais exigido pela palma. De acordo com Lima et al. (2002), os teores médios de nutrientes exigidos pela palma africana são 80,3 kg de nitrogênio, 21,4 kg de fósforo, 162 kg de potássio e 6 kg de boro, divididos em duas etapas distintas: viveiro e campo. Esses valores referem-se às quantidades que devem ser aplicadas por hectare ao ano.

Ainda segundo o autor, uma outra técnica utilizada pelos produtores para manutenção da fertilidade do solo é o plantio de cobertura da leguminosa *Pueraria phaseoloides*, que é capaz de realizar fixação simbiótica de nitrogênio do ar, podendo contribuir com até 300 kg N/ha/ano. Essa leguminosa ainda evita o crescimento de plantas daninhas na área, mantém o solo permanentemente coberto, além de incorporar grande quantidade de matéria orgânica da própria leguminosa.

Geralmente, o plantio do dendê é feito num espaçamento de 9 m x 9 m, em um esquema de triângulo equilátero, proporcionando, assim, uma população de 143 plantas por hectare. Para isso são utilizadas cerca de 220 sementes para a semeadura no viveiro, sendo que cada semente pesa em média de 3 a 4 gramas (LIMA, 2007).

No cultivo da palma africana, o herbicida utilizado é o glyphosate, na dosagem de 2,5 kg ia = 5 l/ha. Já os inseticidas utilizados durante os tratos culturais são: Endosulfan 4 g ia/ha para o controle da broca-das-raízes, Carbaryl 85PM (200 g/ha) no controle da *Sibine fusca*

(Lepidóptera), 150 g/ha de Triclorfon 80PM no combate à *Castnia daedalus* (Lepidóptera) e 300 g/ha de Dipel no controle da *Brassolis sophorae* (Lepidóptera) (Embrapa/CPAA).

O balanço final energético é calculado subtraindo-se a energia gasta na produção agrícola da energia obtida com a produção das sementes, óleo e subprodutos.

Em média, para cada tonelada de cachos produzidos, são obtidos 220 kg de óleo, 120 kg de fibras, 50 kg de cascas e 35 kg de torta.

São necessários 4,54 kg de sementes de dendê para a produção de 1 kg de óleo de dendê. Dividindo sua produtividade média de 25.000 kg/ha de cachos, obtém-se 5.500 kg de óleo por hectare, com valor energético de 49.500.000 kcal/ha.

De acordo com a Tabela 2, a estimativa de gastos da parte agrícola para produzir 25 toneladas de cachos/ha de dendê foi de 10.151.000 kcal/ha.

Considerou-se uma produtividade de 25.000 kg de cachos de dendê por hectare para o cálculo na Tabela 3. Os subprodutos podem ser relacionados da seguinte maneira: 22 % de óleo, 5 % de casca, 12 % de fibras e 3,5 % de torta, com poder calorífero de 9.000 kcal para o óleo, 4.420 para as fibras e para a casca e 4.000 kcal para a torta.

Verifica-se um balanço energético positivo para o dendê de 61.634.000 kcal/ha; para cada unidade de energia que entra no sistema, produzem-se 7 unidades de energia, levando-se em conta para esses cálculos somente os gastos energéticos das operações agrícolas.

Estudos estão sendo realizados para que sejam adicionados, nesse balanço, os gastos energéticos nas operações industriais de processamento do óleo e transformação em biodiesel.

**Tabela 2.** Entradas de energia na produção de dendê por hectare no Brasil.

Fator	Dendê	
	Quantidades	Mcal
Mão-de-obra	85 homens/dia	6800
Maquinário	4.400 kg	230
Combustível	70 lts	700
Nitrogênio	80,3 kg	1.280,4
Fósforo	21,4 kg	88,3
Potássio	162 kg	525,4
Boro	6 kg	22
Sementes de Puerária	1,5 kg	12
Sementes	1 kg	8
Herbicidas	2,5 kg	272,5
Inseticidas	1,2 kg	120
Transporte	110 km	90
Cachos	25.000 kg	-
<b>Total de entradas</b>	-	<b>10.172,6</b>
<b>Saída</b>	-	

**Tabela 3.** Saídas de energia do sistema de produção.

Fator	Dendê Quantidade	Mcal
Óleo <sup>4</sup>	5.500 kg	49.500
Casca <sup>4</sup>	1.250 kg	5.525
Fibras <sup>4</sup>	3.000 kg	13.260
Torta de palmiste <sup>4</sup>	875 kg	3.500
*	14.375 kg	*
Total	25.000 kg	71.785
Entrada	Agrícola	10.151
<b>Balanco Óleo</b>	5.500 kg	<b>39.349 (1:4,8)</b>
<b>Balanco Geral</b>	10.625 kg	<b>61.634 (1:7)</b>

\* dado indisponível na literatura pesquisada

## Referências

A CULTURA do dendê. Brasília: Embrapa-SPI, 1995. 68p. ( Embrapa/ CPAA, Coleção Plantar, 32)

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CIT, 1985. 364p. (Documentos, 16).

FURLAN JÚNIOR, J.; MULLER, A. A. A Agricultura Familiar e a Dendeicultura na Amazônia. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004, 3p. (Embrapa Amazônia Oriental, Comunicado Técnico, 107).

LIMA, S. M. V.; FREITAS FILHO, A. de; CASTRO, A. M .G. de; SOUZA, H. R. de. **Desempenho da cadeia produtiva do dendê na Amazônia Legal**. Belém: PRODEAM, 2002. 162 p. Trabalho realizado no âmbito do Acordo de Cooperação Técnica SUDAM/OEA, mediante contrato de consultoria com a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Universidade Federal de Pernambuco-FADE e cooperação técnica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA.



LIMA, W. A. de. Informação Pessoal. Embrapa cpaa, 2007.

LORA, E. E. S.; COSTA R. E. da; YÁÑEZ E.; TORRES E. A. **Balanço energético preliminar da produção de biodiesel de óleo de palma para as condições de Brasil e da Colômbia.** In: ENCONTRO DE ENERGIA NO MEIO RURAL E GERAÇÃO DISTRIBUÍDA, 6., 2006, Campinas. Anais... Itajubá: IME/UNIFEI, 2006.

PIMENTEL, D.; PATZEK, T. W. **Ethanol Production Using Corn, Switchgrass, and Wood; Biodiesel Production Using Soybean and Sunflower.** Natural Resources Research, v.41, n.1, 2005.

PIMENTEL, D.; PIMENTEL, M. **Food, energy and society:** Colorado Univ. Press, Boulder, CO, 363p., 1996.

SLUSZZ, T.; MACHADO, J. A. D. **Características das potenciais culturas matérias-primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar.** In: ENCONTRO DE ENERGIA NO MEIO RURAL E GERAÇÃO DISTRIBUÍDA, 6., 2006, Campinas. Anais... Itajubá: IME/UNIFEI, 2006.

# Desenvolvimento de Linhagens Endogâmicas Recombinantes para a Análise Genética da Tolerância à Ferrugem Asiática da Soja

---

SANTOS, J.V.M. DOS<sup>1</sup>; YAMANAKA, N.<sup>2</sup>; SILVA, D.C.G. DA<sup>1</sup>; PASSIANOTTO, A.L.L.<sup>1</sup>; NOGUEIRA, L.M.<sup>1</sup>; TOBITA, S.<sup>2</sup>; ARIAS, C.A.A.<sup>3</sup>; NEPOMUCENO, A.L.<sup>3</sup>; ABDELNOOR, R.V.<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná, campus Faculdades Luiz Meneghel, , Bandeirantes, PR, CEP 86360-000, E-mail: jvitor@cnpso.embrapa.br, andre@cnpso.embrapa.br, livia@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>Japan International Research Center for Agricultural Sciences (Jircas), Japão. E-mail: naoki@jircas.affrc.go.jp; bita1-mon@jircas.affrc.go.jp. <sup>3</sup>Embrapa Soja, Londrina, PR, CEP 86001-970. E-mail: arias@cnpso.embrapa.br, nepo@cnpso.embrapa.br, ricardo@cnpso.embrapa.br.

A ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, é a doença mais importante atualmente no cultivo da soja, podendo causar elevadas perdas de produção no Brasil. Em função da baixa durabilidade da resistência conferida por genes de efeito maior, a tolerância à ferrugem asiática é uma característica desejável em programas de melhoramento. Pesquisadores da Embrapa Soja identificaram duas cultivares de soja, a BRS 184 e a BRS 231, para as quais a severidade da doença foi considerada baixa e alta, respectivamente (Cláudia V. Godoy, comunicação pessoal). Apesar de as mesmas não possuírem qualquer gene de efeito maior de resistência à ferrugem, apresentaram, respectivamente, 50,6 % e 10,7 % de redução na produtividade devido à função da infecção por ferrugem em campo. Portanto, é esperado que a BRS 231 possua algum tipo de tolerância à ferrugem asiática. O objetivo deste trabalho é descrever o desenvolvimento de linhagens endogâ-

micas recombinantes (LERs), derivadas do cruzamento entre a BRS 184 e a BRS 231, demonstrando que podemos esperar que elas constituam bons materiais para a análise genética da tolerância à ferrugem asiática.

Para o desenvolvimento das LERs foram utilizadas três plantas, originadas do cruzamento entre as cultivares BRS231 e BRS184, que geraram uma população de 197 plantas  $F_2$ . A população  $F_2$  foi avançada até a geração  $F_7$ , utilizando o método de descendência de uma única semente. A população obtida ao final deste processo foi uma  $F_8$  composta por 164 famílias. Amostras de folhas da população  $F_2$ , dos genótipos parentais foram coletadas e armazenadas em freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para posterior extração de DNA. O mesmo procedimento foi realizado para a população  $F_7$ . A população  $F_7$  será utilizada posteriormente para o mapeamento dos locos de caracteres quantitativos para a tolerância à ferrugem.

As cultivares BRS 184 e BRS 231 apresentam como características em comum a resistência ao cancro e à necrose da haste, porém divergem em relação a outras doenças de interesse agrônomo (TECNOLOGIAS, 2007). Além disso, divergem também em relação à pigmentação do hilo, da flor, da pubescência e tolerância à seca.

A pigmentação é conhecida por ser influenciada por fatores bióticos e abióticos e a relação entre cor da flor, dos cotilédones, da pubescência e a resistência à FAS foi previamente testada em cultivares chinesas de soja (Yamanaka et al., 2006). A presença de pigmento na flor e nos cotilédones foi positivamente relacionada à resistência, enquanto a cor da pubescência não apresentou relação. Entretanto, nada se sabe sobre a possível relação da cor do hilo com a resistência à ferrugem.

A cor do hilo para a BRS 184 e a BRS 231 é, respectivamente, marrom e preta. Entretanto, a geração  $F_1$  apresentou cor do hilo cinza médio e a geração  $F_2$ , segregação contínua para esta característica, variando do preto até o marrom. A característica foi também analisada na geração  $F_7$ . Apesar das cores estarem aqui classificadas em cinco classes, foi possível observar sua segregação contínua. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Para identificar as características patológicas que contribuem para a resistência à FAZ, observada na BRS 231, os seguintes fatores quantitativos foram avaliados em cinco a seis repetições biológicas de cada genótipo: período de incubação, período de latência, número de urédias por lesão, frequência de lesões com urédias e o número de esporos por lesão (Tabela 2). Os parâmetros frequência de lesões com urédias e número de urédias por lesão foram avaliados com auxílio de lupa. Para a contagem do número de esporos, 1 mL de água foi submetido à agitação em contato com parte de uma folha infectada. A suspensão de esporos resultante foi avaliada em uma câmara de Neubauer e a contagem foi realizada sob microscópio óptico.

A cultivar avaliada BRS 231 apresentou resultados que puderam ser relacionados à resistência para todas as variáveis analisadas, exceto para o período de latência. Entretanto, de todas as características positivamente relacionadas, somente o período de incubação foi significativamente maior para a BRS 231 em relação à BRS 184 (Tabela 2). Essa característica pode estar ligada à habilidade da BRS 231 de sofrer pouco decréscimo em produtividade quando infectada com ferrugem asiática.

**Tabela 1.** Segregação da cor do hilo em  $F_2$  e  $F_7$ .

Classe	Preto	Cinza Escuro	Cinza Médio	Cinza Claro	Marrom
Segregação em $F_2$	93	57	30	7	10
Segregação em $F_7$	69	13	21	18	35

**Tabela 2.** Características relacionadas à tolerância à ferrugem asiática da soja nas duas variedades parentais.

	Caráter				Caráter			
	Período de incubação (dias)				Período de latência (dias)			
	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)
BRS 184	6.0	6 - 6	0.00	0.00	10.0	10 - 10	0.0	0.145
BRS 231	6.8	6 - 7	0.40		9.7	9 - 10	0.5	
	Lesões com urédias (%)				Nº de esporos por lesão			
	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)
BRS 184	94.00	90.7 - 100	4.50	0.246	84.6	36 - 149	44.135	0.330
BRS 231	93.20	79.6 - 100	7.71		62.0	29 - 107	31.172	
	Nº de urédias por lesão							
	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)				
BRS 184	2.1	1.89 - 2.69	0.34	0.39				
BRS 231	1.9	1.54 - 2.59	0.37					

Para estimar a diversidade genética entre os parentais utilizados nesse cruzamento, as cultivares BRS 231 e BRS 184 foram comparadas a outras 19 cultivares brasileiras, previamente utilizadas para revelar a diversidade do germoplasma brasileiro (Yamanaka et al., 2007), utilizando 12 marcadores SSR. O polimorfismo entre os parentais também foi checado utilizando-se 320 marcadores SSR.

Ambas as cultivares pertencem a um de dois grandes clusters de cultivares brasileiras e foram geneticamente as mais próximas entre todas as 21 cultivares (Fig. 2). Entretanto, a distância genética entre os parentais foi relativamente grande, uma vez que 60 de todas as 420 possíveis combinações de cultivares foram estimadas tendo uma distância genética menor e, portanto, sendo menos polimórfica do que esta combinação. Foi encontrado um polimorfismo relativamente alto entre os parentais, ou seja, 94 dos 320 marcadores SSR testados (29,4 %) foram polimórficos. Portanto, é esperada uma grande diversidade ao nível de DNA para as progênies oriundas da combinação BRS 184 e BRS 231, o que facilitará o mapeamento dos QTLs para a resistência quantitativa à ferrugem.

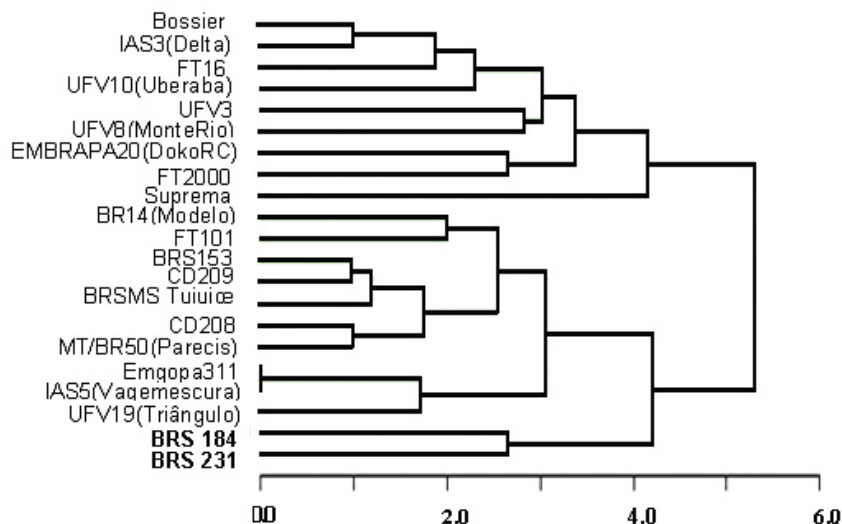


Fig. 1. Dendrograma UPGMA obtido da análise de 12 marcadores SSR e 21 variedades brasileiras de soja.

Conforme o esperado, essa população pode ser usada para a análise genética e mapeamento da resistência quantitativa à ferrugem asiática. Adicionalmente, poderá ser utilizada com os mesmo objetivos em relação à tolerância à seca. Avaliações para essa característica serão realizadas em F8.

## **Referências**

EMBRAPA SOJA, EMBRAPA CERRADO, EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil, 2007, Cap.11, 196 – 210p.

YAMANAKA N, SATO H, YANG Z, XU D.H, CATELLI L.L, BINNECK E, ARIAS C.A.A, ABDELNOOR R.V AND NEPOMUCENO A.L. Genetic relationship between chinese, japanese, and brazilian soybean gene pools revealed by simple sequence repeat (SSR) markers, 2007, In Press, Genetics and Molecular Biology.

YAMANAKA N, OLIVEIRA MCN, YANG Z, ABDELNOOR R.V, NEUMAIER AL AND NEPOMUCENO A.L. Correlação entre 21 características observadas em 225 genótipos de soja do noroeste da China, 2006. IV Congresso Brasileiro de Soja, p. 103. Embrapa Soja, Londrina.

# Mapeamento do Locos de Resistência à Ferrugem Asiática no Genótipo PI 200526 (Shiranui).

---

CAMARGO, P.O.<sup>1</sup>; CATELLI, L.L.<sup>3</sup>; YAMANAKA, N.<sup>4</sup>; ARIAS, C.C.<sup>2</sup>; ABDELNOOR, R.V.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, Campus Luiz Meneghel, CEP 86360-000, Bandeirantes-PR, ffalm@ffalm.br ; <sup>2</sup>Embrapa Soja; <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP-Campus Jaboticabal-SP; <sup>4</sup>Japan Internacional Research Center for Agricultura Sciences.

A ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow) constitui a principal ameaça à produtividade e à competitividade da soja nacional (CHEGA, 2005).

Já foram descritos na literatura quatro genes de resistência dominantes e independentes denominados *Rpp1* (encontrado na planta introduzida PI 200492), *Rpp2* (PI 230970), *Rpp3* (PI 462312) e *Rpp4* (PI459025) (Bromfield e Hartwing, 1980; McLean e Byth, 1980; Hartwig, 1986). Quando a doença foi primeiramente detectada no Brasil todos esses genes eram efetivos, entretanto, em 2003 um isolado de *P. pachyrhizi* infectou plantas portadoras dos genes *Rpp1* e *Rpp3*. Além das PIs portadoras dos genes *Rpp2* e *Rpp4*, outras fontes de resistência ainda efetivas vêm sendo identificadas em avaliações fenotípicas após inoculação com o patógeno (Arias et al., 2004).

Este trabalho teve por objetivo estudar a herança e mapear o gene de resistência à ferrugem asiática da soja, dando subsídios a programas de melhoramento para resistência/tolerância a esse patossistema, auxiliando a manutenção da competitividade e a sustentabilidade do agronegócio brasileiro.

Foram avaliadas as populações  $F_2$  e  $F_{2:3}$  do cruzamento entre a linhagem BRI98-641 (RI41) (suscetível à ferrugem) e o genótipo PI 200526 (Shiranui) (resistente à ferrugem). A população segregante e os parentais foram inoculados com esporos do fungo *P. pachyrhizi* e avaliada fenotipicamente quanto à resistência, classificando as plantas por meio da identificação de lesões RB, características de genótipos resistentes, e de lesões TAN, características de genótipos suscetíveis.

O DNA genômico foi extraído de tecido foliar, a partir de uma única planta por genótipo, coletada em casa-de-vegetação, ainda em estágio  $V_2$ . A extração de DNA foi baseada no método descrito por Keim et al. (1988), com modificações.

**Tabela 1.** Resultado das análises de segregação e teste de Qui-quadrado para reação à ferrugem asiática da soja e para os marcadores moleculares microssatélites, realizado nos cruzamentos entre Shiranui x RI41.

Marcadores	Observado <sup>b</sup>				Esperado <sup>c</sup>		
	N <sup>a</sup>	A/B	C		R:H:S	Qui-quadrado <sup>d</sup>	Probabilidade(%)
<i>Rpp</i> (Shiranui) $F_{2:3}$	115	27	66	22	1:2:1	2.95ns	22.90
Satt152	120	29	68	23	1:2:1	2.73ns	25.50
Satt675	119	30	68	21	1:2:1	3.79ns	15.03
Satt080	118	30	66	21	1:2:1	4.10ns	12.86
Satt624	117	30	66	21	1:2:1	3.31ns	19.13
Satt631	120	29	65	26	1:2:1	0.98ns	61.16
Satt280	116	66	32	18	1:2:1	63.03*	<0.001

<sup>a</sup> N - número de indivíduos.

<sup>b</sup> A, B, e C - homozigoto resistente, heterozigoto resistente e homozigoto recessivo, respectivamente.

<sup>c</sup> Segregação dos indivíduos: R-resistente, H - heterozigoto, S - suscetível.

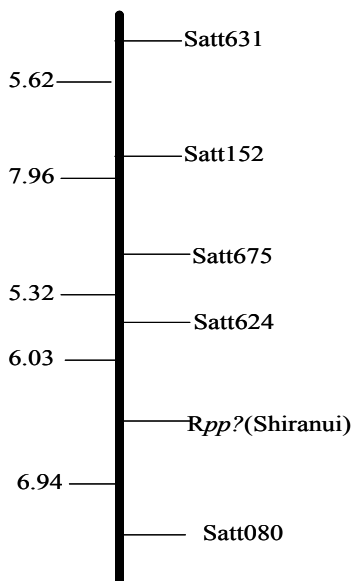
<sup>d</sup> ns - não significativo a 5% do teste de Qui-quadrado.

\* significativo a 5% do teste de Qui-quadrado.

Foram testados 87 marcadores microssatélites entre os parentais Shiranui e RI41, sendo 28 polimórficos. Inicialmente, foram selecionados 10 indivíduos resistentes e 10 indivíduos suscetíveis para verificar provável ligação dos marcadores ao caráter. Após a verificação de uma possível ligação dos marcadores, estes foram utilizados para a genotipagem do restante da população de plantas  $F_2$ . Os marcadores microssatélites utilizados foram desenvolvidos e publicados por Cregan et al., (1999) e seu mapeamento está disponível em <http://soybase.agron.iastate.edu/>.



As análises genéticas de resistência à ferrugem da soja foram obtidas pelo teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), verificando que a segregação resistente:suscetível corresponde a um loco com ação dominante para resistência na população  $F_{2:3}$  do cruzamento entre Shiranui x RI41 ( $1RppRpp:2Rpprpp:1rpprpp$ ) ( $\chi^2 = 2.9$  e  $P = 22.9$ ) (Tabela1).



**Fig. 1.** Representação do mapeamento do gene de resistência à ferrugem asiática da soja no grupo de ligação N em relação aos marcadores microssatélites identificados. As distâncias no mapa são dadas em centimorgan (cM).

A análise de ligação foi realizada utilizando o programa QMOL, resultando no mapeamento do gene de resistência à ferrugem asiática *Rpp?*(Shiranui) no grupo de ligação N, entre os marcadores Satt080 e Satt624 (Fig. 1). Houve distorção de segregação no loco Sat280 de acordo com o teste do  $\chi^2$  ( $p > 0,05$ ) (Tabela1), não possibilitando a sua inclusão no mapa. Uma possível razão para essa distorção pode ter sido a ocorrência de seleção na população, uma vez que esse mecanismo pode estar envolvido a locos relacionados à reprodução ou a sobrevivência, explicando um aumento significativo dos indivíduos homozigotos e resistentes.

Para complementar os resultados com marcadores microssatélite e na tentativa de identificar novos marcadores que se aproximem do gene de resistência à ferrugem da soja, serão testados marcadores moleculares, RAPD e AFLP, para posteriormente serem utilizados em trabalhos de introgressão de locos de resistência à ferrugem da soja em cultivares elites.

## Referências

ARIAS, C.A.A.; RIBEIRO, A. S.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R. L.; OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J.F.F. de. Inheritance of resistance of soybean to rust (*Phakopsora pachyhizi* Sidow). In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz do Iguassu. Abstracts of contributed papers and posters. Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 100 (Embrapa Soja. Documentos, 228). Editado por Flávio Moscardi, Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Odilon Ferreira Saraiva, Paulo Roberto Galerani, Francisco Carlos Krzyzanowski, Mercedes Concosdia Carrão-panizzi.

BROMFIELD, K.R.; Hartwig, E.E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. *Crop Science*, v. 20, 1980, p. 254-255.

CHEGA a 313 o número de municípios com ferrugem asiática no Brasil. Disponível em <<http://www.cnpso.embrapa.com.br>> Acessado em jan de 2005.

CREGAN, P.B.; JARVIK, T.; BUSH, A.L.; SHOEMAKER, R.C.; LARK, K.G.; KAHLER, A.L.; VANTOAI, T.T.; LOHNES, D.G.; CHUNG, J.; SPECHT, J.E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. *Crop Science*, n.39, p.1464–1490.1999.

HARTWIG, E.E. Identification of a fourth major gene conferring resistance to soybean rust. *Crop Science*, v. 26, 1986, p. 1135-1136.

KEIM, P.; OLSON, T.C.; SHOEMAKER, R.C. A rapid protocol for isolating soybean DNA. Soybean Genetics Newsletter. v.15, 1988, p.150-152.

MCLEAN, R.J.; BYTH, D.E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. Aust. Journal of agricultural Research., v. 31, p. 951-956, 1980. Conference. (Moscardi, F. et al. editors) Londrina: Embrapa Soybean, 2004.

# **Compatibilidade de Fungicidas sobre os Fungos Entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae***

---

KURIAMA, F<sup>1,2,3</sup>, SOSA-GÓMEZ D. R.<sup>3</sup>, SILVA, J. J.<sup>3</sup> <sup>1</sup>Bolsista do CNPq, <sup>2</sup>Centro Universitário Filadélfia Unifil, <sup>3</sup>Embrapa Soja Londrina PR, francine@cnpso.embrapa.br

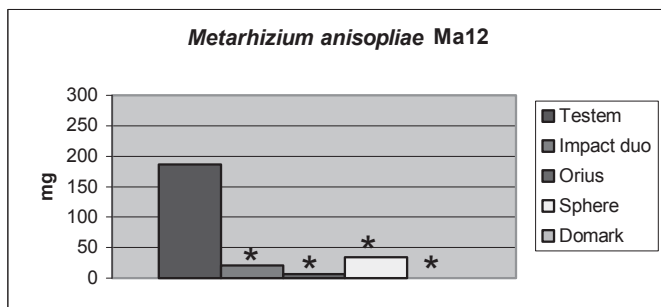
O uso de compostos químicos sintéticos tem sido, há muitos anos, o principal meio de controle de pragas. Apesar de sua significativa contribuição para a produção agrícola, o uso intensivo e indiscriminado desses produtos favorece o surgimento de pragas secundárias, assim como a seleção de populações resistentes a esses produtos; além disso, são altamente tóxicos, sendo prejudiciais ao ambiente e à saúde humana (Marques et al., 2004).

Em diversos sistemas agrícolas os fungos entomopatogênicos são importantes agentes de controle natural das populações de insetos e ácaros-praga. Frequentemente, essas doenças nas populações desses artrópodes passam despercebidas para a maior parte dos agricultores, mas a supressão desses inimigos naturais pode ter consequências econômicas, ocasionando ressurgência das pragas. Experimentos de campo têm demonstrado que aplicações de fungicidas na cultura da soja podem estimular a incidência de maior número de lagartas nas áreas tratadas com benomil ou difenoconazole por supressão de um dos inimigos mais importantes das lagartas, o fungo *Nomuraea rileyi* (Sosa-Gómez et al., 2003). Portanto, a aplicação de produtos não seletivos pode ocasionar os referidos problemas. A preservação dos fungos como agentes microbianos de ocorrência natural é essencial para evitar ressurgência ou surtos de pragas.

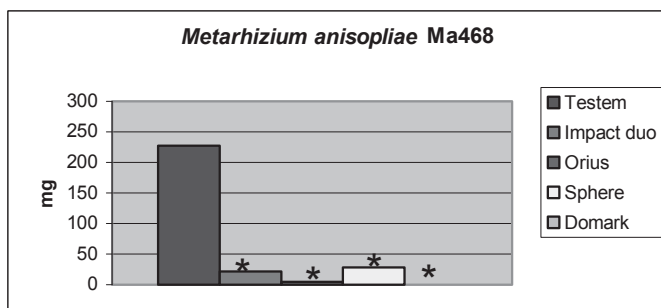
Assim, este trabalho teve objetivo de verificar a compatibilidade dos fungicidas utilizados na cultura da soja com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

Foram utilizados isolados de *M. anisopliae* (CNPSo-Ma12 e Ma468) e *B. bassiana* (CNPSo-Bb19), os quais foram inoculados em meio líquido, caldo de batata mais dextrose com os fungicidas e incubados sob agitação (100 rpm) por dez dias. As concentrações mencionadas a seguir foram utilizadas em 50 mL de meio líquido. Foi aplicado um volume de 100  $\mu$ L dos fungicidas: tebuconazole (Folicur), tetraconazole (Domark), flutriafol (Impact), tiofanato metílico + flutriafol (Impact duo) e epoxiconazole + pyraclostrobin (Opera); 80  $\mu$ L de tebuconazole (Orius); 60  $\mu$ L de trifloxystrobin + ciproconazole (Sphere) e ciproconazole + propiconazole (Artea); 50mg de fluquinconazole (Palisade). Para permitir a aeração do meio foram utilizados Erlenmeyers de 250 mL. A variável avaliada foi peso de micélio seco. No ensaio com Ma12 e Ma468 foram utilizados os fungicidas: tiofanato metílico + flutriafol (Impact Duo), tebuconazole (Orius), trifloxystrobin + ciproconazole (Sphere) e tetraconazole (Domark). Nos ensaios com Bb19 foram: flutriafol (Impact), epoxiconazole + pyraclostrobin (Opera), ciproconazole + propiconazole (Artea), tetraconazole (Domark), difenoconazole (Score), trifloxystrobin + ciproconazole (Sphere), tebuconazole (Folicur), tebuconazole (Orius) e fluquinconazole (Palisade). Os dados de peso de micélio seco nos tratamentos foram comparados com a produção de micélio na testemunha, mediante o teste Dunnet, utilizando o programa Sigmastat (Jandel Scientific, 1995).

Infere-se, a partir dos resultados obtidos, que todos os fungicidas afetaram significativamente (Dunnet, 0,5 %) os isolados de *M. anisopliae*. Em escala decrescente, os que mais afetaram o fungo foram tetraconazole (Domark), tebuconazole (Orius), tiofanato metílico + flutriafol (Impact Duo) e trifloxystrobin + ciproconazole (Sphere) para ambos os isolados, em relação à testemunha (Fig. 1 e Fig. 2). No entanto, quando considerado o isolado *B. bassiana*, apenas o fluquinconazole (Palisade) não afetou o crescimento micelial do fungo. Em comparação com a testemunha, em escala decrescente, os fungicidas que mais afetaram o crescimento do fungo Bb 19 foram epoxiconazole (Opera), tetraconazole



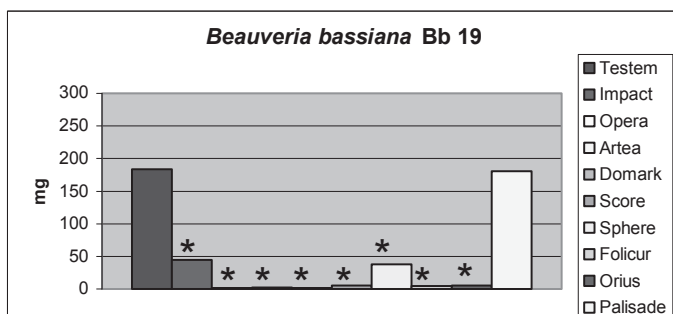
**Fig. 1.** Média do peso de micélio seco (mg) de *M. anisopliae* CNPSO-Ma 12 após exposição contínua a fungicidas, durante 10 dias, em meio líquido. Colunas com asterisco diferem significativamente da testemunha ( $P = 5\%$ ).



**Fig. 2.** Média do peso de micélio seco (mg) de *M. anisopliae* CNPSO-Ma 468 após exposição contínua a fungicidas, durante 10 dias, em meio líquido. Colunas com asterisco diferem significativamente da testemunha ( $P = 5\%$ ).

(Domark), ciproconazole + propiconazole (Artea), tebuconazole (Folicur), tebuconazole (Orius), difenoconazole (Score), trifloxystrobin + ciproconazole (Sphere), flutriafol (Impact) (Fig. 3).

Confirmando os resultados, constatou-se que os fungicidas testados inibiram o crescimento dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* possibilitando a interferência negativa no controle natural de insetos. Apenas o Fluquinconazole (Palisade) não afetou o crescimento de *B. bassiana* mostrando assim que ambos agentes de controle podem ser utilizados simultaneamente.



**Fig. 3.** Média do peso de micélio seco (mg) de *B. bassiana* CNPSO-Bb 19 após exposição contínua a fungicidas, durante 11 dias, em meio líquido. Colunas com asterisco diferem significativamente da testemunha ( $P = 5\%$ ).

## Referências

JANDEL SCIENTIFIC. Sigmapstat statistical software: user's manual. Version 2.0 for Windows 95, NT & 3.1

MARQUES, R. P., MONTEIRO, A. C., PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*) *Ciência Rural*, v.34, n.6, nov-dez, 2004.

GAZZONI, D. L. Efeito de populações de percevejos na produtividade, qualidade da semente e características agrônômicas da soja. *Pesquisa agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v.33, n.8, p.1229-1237, 1998

SOSA-GÓMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; MOSCARDI, F; NOZAKI, M.H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatilis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. *Neotropical Entomology*, V.32, n.2, p. 287-291, 2003.

TECNOLOGIAS de produção de soja – região central do Brasil 2007.

Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. p. 212 (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 11).

# Emprego de Marcadores Moleculares no Estudo da Fixação Biológica do Nitrogênio Visando Incrementos na Nodulação e na Fixação Biológica do Nitrogênio em Soja.

---

BORTOLATO, N.M<sup>1</sup>; SANTOS, M.A<sup>2</sup>; HUNGRIA, M<sup>3</sup>; GERALDI, I.O<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Centro Universitário Filadélfia – UniFil, CEP 86 020 000, Londrina-PR. nagilabortolato@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, Piracicaba-SP; <sup>3</sup>Embrapa Soja.

## Introdução

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) juntamente com a fotossíntese são os processos biológicos fundamentais para a manutenção dos ecossistemas terrestres. Apesar de representar 78% da constituição gasosa da atmosfera, o nitrogênio molecular (N<sub>2</sub>) não é absorvido pelos eucariotos, que não dispõem de um sistema enzimático para quebrar a tripla ligação entre os átomos de N. Os microrganismos que possuem o complexo enzimático da nitrogenase são os únicos capazes de fixar o N<sub>2</sub> e convertê-lo em produtos assimiláveis pelos demais organismos.

Esses microrganismos são de vida livre ou associativa sendo que, a associação mais estudada é a relação Rhizobiaceae-leguminosas. Estima-se que cerca de 90 Tg por ano de N<sub>2</sub> são fixados simbioticamente principalmente por *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Sinorhizobium* nas raízes de leguminosas cultivadas (Graham e Vance, 2000). Dentre estas se destaca a associação entre a soja (*Glycine max* L. Merrill) e as bactérias *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* pela importância mundial da cultura.

No cenário atual, o Brasil é o segundo maior produtor de soja e a FBN contribui significativamente para a produção deste grão, uma vez que toda a demanda de N da cultura no País é suprida por esse processo.



Além da importância econômica, a FBN tem um papel fundamental na sustentabilidade dos sistemas agrícolas, pois, o N proveniente dessa fonte é usado diretamente pela planta, sendo menos susceptível à volatilização, a desnitrificação e à lixiviação. Os esforços dos pesquisadores para potencializar a FBN compreendem a seleção de estipes de rizóbios mais eficientes, a adoção de técnicas de manejo como o sistema de plantio direto e o melhoramento da capacidade de fixar  $N_2$  das leguminosas cultivadas. (Rengel, 2002).

No entanto, a avaliação das características relacionadas com a nodulação e com a fixação de  $N_2$  é trabalhosa e envolve a destruição de plantas, o que dificulta avaliação destes parâmetros pelos programas de melhoramento que trabalham com um grande número de genótipos e selecionam para múltiplas características. A seleção assistida por marcadores caracteriza-se como uma alternativa para características de difícil avaliação como a FBN.

Estudos iniciais empregando marcadores para mapeamento de QTL (Quantitative Trait Loci) relacionados com nodulação e fixação foram desenvolvidos por Nicolás et al., (2006) e Santos et al., (2006) na Embrapa soja. Nestes trabalhos, duas populações de mapeamento foram avaliadas em casa-de-vegetação quanto à nodulação e o crescimento da planta e genotipadas com marcadores microssatélites (SSR) sendo identificadas associações significativas entre marcadores e os parâmetros de nodulação e crescimento da planta nas duas populações.

Os objetivos deste trabalho compreenderam a saturação do mapa genético de ligação da população descrita no trabalho de Santos et al., (2006) com marcadores microssatélites e a identificação de novos QTL relacionados com nodulação e fixação de  $N_2$ .

## **Materiais e Métodos**

Para a construção do mapa, amostras de DNA de 157 linhagens endogâmicas recombinantes oriundas do cruzamento entre as cultivares Bossier

e Embrapa 20 foram amplificadas com marcadores microssatélites. Os parâmetros fenotípicos relacionados com a fixação de nitrogênio e a nodulação: massa da parte aérea seca (MPAS), número de nódulos (NN), massa de nódulos secos (MNS), e relação MNS/NN das linhagens, foram obtidos por Santos, et al., 2006. A associação entre marcador e QTL foi determinada pela análise de regressão simples utilizando o programa SAS, 1990.

## Resultados e Discussão

A primeira etapa deste trabalho consistiu na busca por marcadores SSR polimórficos entre os parentais Bossier e Embrapa 20. Foram avaliados na população até o momento 48 marcadores que apresentaram polimorfismo e 21 regiões relacionadas com os parâmetros de crescimento da planta e nodulação foram mapeadas, sendo 7 para MPAS, 6 para NN, 5 para MNS/NN e 3 para MNS. Para algumas regiões, faz-se necessária à busca por outros marcadores polimórficos para assegurar uma cobertura total do genoma.

Todas as associações detectadas foram de pequeno efeito, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) variou de 2,5 – 8, ver tabela 1. A baixa magnitude destes efeitos coincide com os baixos valores de herdabilidade das características avaliadas. Resultados semelhantes têm sido relatados em estudos de características com moderadas ou baixas herdabilidade, como características relacionadas com rendimento de grãos em soja (Orf et al., 1999; Yuan et al., 2002).

**Tabela 1.** Distribuição da ligação de marcadores SSR mostrando associações significativas com a massa da parte aérea seca (MPAS), número de nódulos (NN), Massa média de nó/nódulos secos (MNS/NN), massa de nódulos secos (MNS), como resultado da análise de regressão.

Característica Quantitativa	Marcador	Grupo de Ligação†	Nível de significância do teste <i>F</i>	R <sup>2</sup> %
MPAS mg.pl <sup>-1</sup>	Satt332	MLG B1	0,01	3,7
	Satt583	MLG B1	0,0059	5
	Satt434	MLG H	0,03	3,1
	Satt232	MLG L	0,005	5,0
	Satt495	MLG L	0,11	4
	Satt185	MLG E	0,021	3
	Satt045	MLG E	0,044	3
NN nódulo.pl <sup>-1</sup>	Satt197	MLG B1	0,05	2,5
	Satt509	MLG B1	0,004	5,25
	Satt307	MLG C2	0,0025	6,2
	Satt325	MLG F	0,016	3,8
	Satt252	MLG F	0,048	3
	Satt573	MLG E	0,046	4
MNS mg.planta <sup>-1</sup>	Satt202	MLG C2	0,022	3,3
	Satt307	MLG C2	0,0005	8,0
	Satt180	MLG C1	0,034	3
MNS/NN	Satt296	MLG D1b	0,03	3,0
	Satt192	MLG H	0,03	3,8
	Satt509	MLG B1	0,05	2,5
	Satt252	MLG F	0,0099	5
	Satt394	MLG G	0,027	3

†. Grupo de ligação descrito em Cregan et al., (1999).

## Referências

- CREGAN, P. B.; JARVIK, T.; BUSH, A. L.; SHOEMAKER, R. C.; LARK, K. G.; KAHLER, A. L.; KAYA, N.; Van TOAL, T. T.; LOHNES, D. G.; CHUNG, J.; SPECHT, J. E. Na integrated genetic linkage map of the soybean genome. **Crop Science**, v. 39, p. 1464 - 1491, 1999.
- GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Nitrogen fixation perspective: an overview of research and extension needs. **Field Crops Research**, v. 65, p. 93-106, 2000.
- LANDER, E.S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLON, A.; DALY, M.J.; LINCOLN, S.; NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkages maps or experimental and natural populations. **Genomics**, Washington, v. 1, p. 174-181, 1987.
- ORF, J.H.; CHASE, K.; ADLER, F.L.; MANSUR, L.M.; LARK, K.G. Genetics of soybean agronomic traits: II. Interactions between yield quantitative trait loci in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1652-1657, 1999.
- RENGEL, Z. Breeding for better symbiosis. **Plant and Soil**, v. 245, p. 147-162, 2002.
- NICOLÁS, M. F.; HUNGRIA, M.; ARIAS, C. A. A. Identification of quantitative trait loci controlling nodulation and shoot mass in progenies from two brazilian soybean cultivars. **Field Crops Research**, v. 95, p. 355-366, 2006.
- SANTOS, M. A.; NICOLÁS, M. F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 67-75, 2006.
- YUAN, J.; NJITI, V.N.; MEKSEM, K.; IQBAL, M.J.; TRIWITAYAKORN, K.; KASSEM, My.A.; DAVIS, G.T.; SCHMIDT, M.E.; LIGHFOOT, D.A. Quantitative trait loci in two soybean recombinant inbred line popu-

lations segregating for yield and disease resistance. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 271-277, 2002.

SAS Institute Inc. 1990. SAS/STAT user's guide, Version 6, fourth ., ed., vol. 2. SAS Institute Inc., Cary, NC.

# Determinação da Variabilidade Intra-Específica e Diferenciação de Espécies de Parasitóides e Fungos Entomopatogênicos

---

MARGONAR, D.<sup>1,2,3</sup>; SOSA-GÓMEZ, D.R.<sup>3</sup>; SILVA, J.J.<sup>3</sup>; CORRÊA-FERREIRA, B.S.<sup>3</sup>; <sup>1</sup>Bolsista do CNPq; <sup>2</sup>Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL, CEP 86020-000, Londrina-PR, danimargonar@gmail.com; <sup>3</sup>Embrapa Soja.

## Introdução

Nas diversas regiões produtoras de soja do país, os percevejos, juntamente com as lagartas-desfolhadoras, constituem os dois principais grupos de pragas que normalmente causam prejuízos econômicos às lavouras (Gazzoni et al, 1994). Entre os inimigos naturais dessas espécies, os parasitóides de ovos têm sido considerados os mais importantes agentes de mortalidade natural dessas pragas (Peres & Corrêa-Ferreira, 2004). Considerando as populações de lagartas desfolhadoras (*Anticarsia gemmatilis* Hub. e *Pseudoplusia includens* (Walker)) e os escarabeídeos (*Phyllophaga* sp.), os grupos mais importantes de controle natural são os fungos entomopatogênicos (*Nomuraea rileyi* e *Metarhizium anisopliae*). A variabilidade intraespecífica desses agentes de controle natural é conhecida, mas as técnicas utilizadas para aferi-las apresentam reduzida confiabilidade e repetibilidade, portanto, a finalidade deste trabalho foi determinar a variabilidade intraespecífica de parasitóides de percevejos e dos fungos entomopatogênicos para diferenciar suas espécies, assim como seus genótipos, utilizando regiões da subunidade I do gene da citocromoxidase dos parasitóides, *Trissolcus basalís* (Woll.) e *Hexacladia smithi* Ashmead e as regiões espaçadoras intergênicas (Intergenic Spacer, IGS) próximas da subunidade 28S do RNA ribossômico de *N. rileyi* e *M. anisopliae*.

## Material e Métodos

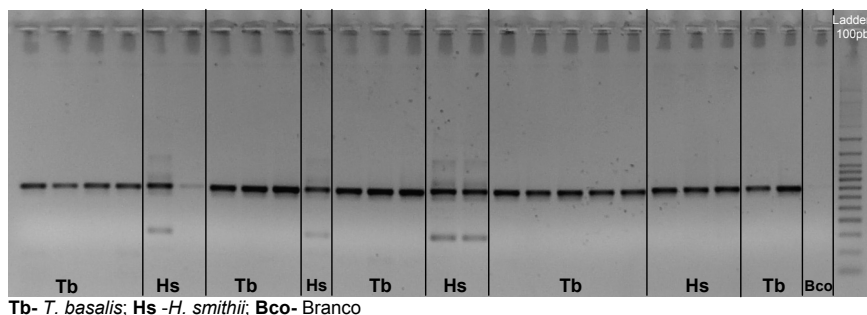
Para se determinar a variabilidade de fungos foram utilizadas as espécies *N. rileyi*, *M. anisopliae*, *M. cylindrospora* e *M. viridulus* cultivadas em meios de cultura líquidos (caldo de 200 g de batata e dextrose 15 g para 1000 ml de água para as espécies de *Metarhizium* e 10 g de neopeptona, 40 g de maltose e 10 g de extrato de levedura em 1000 ml de água para *N. rileyi*). O micélio foi filtrado, secado e seu DNA extraído, segundo o protocolo de ROGER & BENDICH (1988). As espécies de parasitóides utilizadas foram *T. basalis* e *H. smithi*, armazenadas em recipientes lacrados com sílica gel. As amostras das populações de *T. basalis* foram obtidas da sala de criação de parasitóides da Embrapa Soja. Os fungos foram obtidos da micoteca da Embrapa Soja (Sosa-Gomez & Silva, 2002). Após as extrações de DNA dos insetos, em que foi utilizado o protocolo da Biorad (2007), foram realizadas amplificações com os primers J-1514 (5´-GGT CAACAAATCATAAAGATATTGG-3´) e N-2175 (5´-TAAACTTCAGGGTGACCAA AAAATCA-3´). As amplificações dos fungos foram realizadas utilizando combinações dos primers desenvolvidos por PANTOU et al. (2003), no intuito de se obter quantidade suficiente de DNA para sequenciamento. Para purificar o DNA amplificado foi utilizado o kit de purificação da PureLink Quick Gel Extraction Kit (Invitrogen, 2005). Em seguida, foi realizada a clonagem por meio do kit pGEM-T da Promega (Promega, 2007). As amostras clonadas foram amplificadas para sequenciamento utilizando-se o Kit Dye Terminator V3.1 Applied Biosystems e sequenciadas em sequenciador ABI 3100 Applied Biosystems.

## Resultados

Os primers J-1514 e N-2175 apresentaram amplificação adequada do fragmento da subunidade I do gene da citocromoxidase de *T. basalis* e *H. smithii*, porém nas amostras desta última espécie foram observadas bandas duplas indicando amplificação não específica (Fig.1). Foram obtidas sequências de 20 amostras de *T. basalis*, provenientes da

Argentina, Louisiana e Flórida, Estados Unidos e de Londrina, PR, com tamanhos variando entre 663 e 697 pares de base (pb). A sequência de maior comprimento de *T. basalis* proveniente da Louisiana está representada na Fig. 2. A comparação das sequências indica pouca variabilidade intraespecífica, a única diferença foi observada na posição 673 da sequência de maior comprimento, onde houve a substituição de T por G. Essa reduzida variabilidade pode ser devido à falta de variabilidade intrínseca da espécie ou a contaminação das colônias de *T. basalis* por indivíduos de populações locais. A falta de variabilidade dessa região mitocondrial tem sido observada para outras populações de *T. basalis* provenientes da Califórnia, Geórgia (Estados Unidos) e Itália (Walker Jones, USDA, comunicação pessoal). Portanto, a possibilidade de reduzida variabilidade intrínseca desta espécie é mais plausível.

As sequências correspondentes à parte da região IGS e da subunidade 28S de *N. rileyi* e *Metarhizum* spp. não apresentaram boa qualidade. Os maiores fragmentos obtidos para a espécie *N. rileyi* tiveram 255 pb (Fig. 3).



**Fig. 1.** Amplificação do DNA de Tb e Hs com os *primers* J-1514 e N-2175.



> *Trissolcus basal*is-1 Louisiana\_  
 USATTAACCTTCAGGGGGGACCAAAAAATCAAAAAAGATGTTGGTAGAGAACTGGGTC  
 TCCTCCTCCTCCAGGATTAATAAATGATGTATTTAAATTTTCGATCTGATAAAATTATTG  
 TAATAGCTCCAGCTAAAACTGGTAATGATAATAATAAAGAATTGTAGTAATTAATAC  
 TGATCAGGTAAATAACGTTCAATTATTTATTGAACAATTTCTTATATTTAAGATTGTGC  
 ATAAAAATTAATTGAACCTTAAGATTGATGAAATTCCTGCAATATGTAAGGAAAAAT  
 GTTAGATCAATAGAAGGATTTAATTGAGTAGAAAGAGGAGGATAAATTGTTTCATCCT  
 GTTCCTGTTCTGAACCAAAAAATTTCTGTAAATTAATAAGATTAAAGAAGGAATTA  
 ATAATCAAAATCTTATATTATTTAATCGGGGAAATGCTATATCAGGGGCATTAATTATT  
 AATGGAACATAATCAATTTCCAAATCCTCCAATTATGATTGGTATAACTATAAAAAAAT  
 TATAATAAAAGCATGTGAAGTAACAATTGAATTATAAATTTGATCATTTCCAATTAGTA  
 TTCCTGGGATTCTTAATTCTATTTCGAATTAATATACTTATTGCGGATCCTAATATTCCT  
 GCTCAGATTCCAAAGTAAAAATATAATGTTCCAATATCTTTAGGAATTTGTTGACCA

**Fig. 2.** Sequência parcial do gene mitocondrial da subunidade I da citocromoxidase de *Trissolcus basal*is proveniente de Louisiana, Estados Unidos.

> *Nomuraea rileyi*  
 456\_28S4GGGCGGGCAGCACGAATGGGTCAGCATCCGAACTTGATCATAACTTGT  
 AGCGCACATTGCCAGAGAAAACCGCATTTGATACGGTGACTTCTTTCTAGCCTTGTT  
 CGAATTAGCAAGTTATGGGGTAGCTCGGCATGGATTAATTACTCTCCGGCTCAGAA  
 GCTGAATCACAATAAGCGCCCAATGTTTCCCAATTAGGCACCAGCTCCCCAGTAAC  
 TGCAACCTTCTGGCCAATGACAATCAATGATTGGTG

**Fig. 3.** Sequência parcial do gene da subunidade ribossômica 28S de *N. rileyi* isolada da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis*, na região de Londrina, PR em 28/Jan/2003.

## Conclusão

Foram observados seis sítios variáveis na comparação de sete sequências de tamanho aproximado de 160 pb. No caso de *Metarhizium* foram menores de 123 pb. O número de sequências e o tamanho dos fragmentos obtidos foram inadequados para análise. O protocolo de extração de DNA Instagene Matrix foi eficiente para as extrações de DNA de insetos pequenos como *T. basal*is e *H. smithii*. O gene da citocromoxidase não foi apropriado para estudos de variabilidade intraespecífica de *T. basal*is. Considerando a variabilidade observada os estudos das regiões IGS apresentam potencial para diagnóstico de genótipos de isolados das *M. anisopliae* e *N. rileyi*.

## Referências

BIORAD. Nucleic Acid Purification. Instagene™ Matrix and Kits. Chelex 100® (BioRad), InstaGene® Bulletin 2074. Disponível em:

<[http://www.bio-rad.com/LifeScience/pdf/Bulletin\\_2074.pdf](http://www.bio-rad.com/LifeScience/pdf/Bulletin_2074.pdf)>. Acesso em 03 abr. 2007.

GAZZONI, D.L.; SOSA-GOMEZ, D.R.; MOSCARDI, F.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; CORSO, I.C. Insects. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Tropical soybean: improvement and production. Rome: FAO, 1994. p. 81-108. (FAO Plant Production and Protection Series, 27).

INVITROGEN PureLink™ Quick Gel Extraction Kit. Catalog no.. K2100-12. Version B. 14 p. March, 2005.

PANTOU, M.; MAVRIDOU, A.; TYPAS, M. IGS sequence variation, group-I introns and the complete nuclear ribosomal DNA of the entomopathogenic fungus *Metarhizium*: excellent tools for isolate detection and phylogenetic analysis. Fungal Genetics and Biology. v.38, p159–174, 2003.

PERES, W.A.A.; CORRÊA-FERREIRA, B.S. Methodology of mass multiplication of *Telenomus podisi* Ash. and *Trissolcus basalís* (Woll.)(Hymenoptera: Scelionidae) on eggs of *Euschistus heros* (Fab.) (Hemiptera: Pentatomidae). Neotropical Entomology, Londrina. v. 33, n. 4, p. 457-62, 2004.

PROMEGA. pGEM®-T and pGEM®-T Easy Vector Systems. Technical manual. 29p. Disponível em: < <http://www.promega.com/tbs/tm042/tm042.html> >. Acesso em 21 ago. 2007.

ROGERS, S.O.; BENDICH, A.J. Extraction of DNA from plant tissues. In: GELVIN, S.B.; SCHILPEROORT, R.A. (Ed.). Plant molecular biology manual. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1988. p.1-10.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; SILVA, J.J. (Org.). Fungos entomopatogênicos: catálogos de isolados. Londrina: Embrapa Soja, 2002. 32 p. Embrapa Soja. Documentos, 188.

# **Avaliação Das Características Físicas das Sementes de Cultivares de Soja Especiais para Alimentação Humana no Processamento de Extrato Solúvel de Soja**

---

CAMPOS-FILHO, P.J.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, G.B.A.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, E.F.<sup>2</sup>; SILVA, S.O.<sup>2</sup>; SILVA J.B.<sup>2</sup>; MANDARINO, J.M.G.<sup>3</sup>; CARRAO-PANIZZI, M.C.<sup>3</sup>; OLIVEIRA, M.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Norte Paraná - UNOPAR; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Londrina - UEL, <sup>3</sup>Embrapa Soja.

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é atualmente o produto de maior importância agrícola no Brasil. Em 2003, o país se destacou como segundo produtor mundial, responsável por 52 das 194 milhões de toneladas produzidas em nível global ou 26,8 % da safra mundial. No Paraná, na safra de 2003/2004 foram colhidas 10 milhões de toneladas, dando ao estado a segunda posição entre os estados produtores, atrás apenas de Mato Grosso (CONAB, 2004). A soja é um alimento que vem sendo inserido no cotidiano de nossa alimentação cada vez com uma frequência maior. Vários estudos têm demonstrado que o consumo de produtos derivados da soja está associado com a redução de risco de doenças crônico-degenerativas, câncer de próstata e de mama, doenças cardiovasculares e sintomas da menopausa (BARNES, 1996). A soja é rica em proteínas e é excelente fonte de minerais, como ferro, potássio, fósforo e vitaminas do complexo B. Por meio do melhoramento genético é possível obter cultivares de soja com sabor superior, com ausência de lipoxigenase (enzima responsável pelo desenvolvimento do sabor desagradável em produtos de soja), e com teores diferenciados de açúcares (sacarose e amido), que conferem sabor mais adocicado aos grãos de soja. O objetivo deste trabalho foi avaliar sementes de cinco cultivares de soja quanto à perda de tegumento (casca) e de sólidos totais após cozimento direto sem maceração.

Este trabalho foi realizado no laboratório de análises físico-químicas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja. Foram avaliadas sementes de cinco cultivares de soja: Embrapa 48, BRS 213, BRS 257 e BRS 267, produzidas na safra de 2006/2007 e a cultivar BRS 258 produzida na safra de 2005/2006 todas produzidas em Ponta Grossa. Para cada cultivar, foram utilizadas amostras de cem sementes, previamente selecionadas (sem rachaduras ou perda de tegumento), com cinco repetições, cuja massa foi determinada em balança analítica da marca SCIENTECH, modelo AS 210. As sementes foram colocadas em frascos contendo 200 mL de água destilada e estes foram levados para autoclave vertical, da marca FABBE, modelo 103, para o cozimento das sementes. O tempo de cocção foi de cinco minutos a 127 °C e pressão de 1,5 KgF/cm<sup>2</sup>. Após resfriamento, as sementes foram colocadas em placas de petri para avaliação das perdas de sólidos totais durante o cozimento. Em seguida, foram visualmente avaliadas quanto à sua aparência física (cotilédones intactos, cotilédones com casca rachada, cotilédones intactos sem casca e cotilédones partidos). O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, seguido do teste de Tukey a 5 %, para comparação de médias.

**Tabela 1** – Porcentagens de cotilédones intactos, cotilédones com casca rachada, cotilédones intactos sem casca e cotilédones partidos em cultivares de soja cozidas durante 5 minutos em autoclave à 127°C.

	Cotilédones Intactos	Cotilédones com Casca Rachada	Cotilédones Intactos sem Casca	Cotilédones Partidos
Embrapa 48	38,80 AB	39,40 B	13,60 AB	7,60 AB
BRS 213	56,60 A	25,00 B	14,40 A	4,00 AB
BRS257	44,80 AB	31,00 B	13,60 AB	10,60 A
BRS258	31,40 B	60,60 A	6,40 BC	1,40 B
BRS 267	56,00 A	38,80 B	2,60 C	2,60 B
Dms	19,3	20,78	7,82	7,21
Cv%	22,31	27,52	40,86	72,77

Na Tabela 1, estão apresentados os dados em relação à perda de tegumento depois da cocção das cultivares estudadas.

As cultivares BRS 267 e BRS 213 apresentaram maior percentual de cotilédones intactos do que a cultivar BRS 258, sendo que a cultivar em questão não diferiu das cultivares Embrapa 48 e BRS 257. Pode-se observar ainda, que a variedade BRS 258 apresentou a maior porcentagem de cotilédones com casca rachada, entretanto, essas rachaduras não acarretaram numa grande exposição dos cotilédones, o que ocasionaria grande perda de sólidos totais (Tabela 2). Uma hipótese a ser levantada em relação a essa cultivar, armazenada em câmara fria durante 1 ano, é que esse armazenamento acarretou numa porcentagem elevada de cotilédones com casca rachada.

Referente a cotilédones intactos sem casca, a cultivar BRS 213 apresentou maior porcentagem em relação às cultivares BRS 258 e BRS 267, não ocorrendo diferença significativa para as cultivares BRS 257 e Embrapa 48. As cultivares BRS 258 e BRS 267 foram as cultivares que também apresentaram as menores porcentagens de cotilédones partidos, não diferindo estatisticamente das cultivares Embrapa 48 e BRS 213. Assim sendo, verificou-se que as cultivares que apresentaram as menores porcentagens numéricas de cotilédones intactos sem casca e cotilédones partidos foram as cultivares BRS 267 e BRS 258, indício para uma menor perda de sólidos totais, pois ocorreu uma menor exposição dos cotilédones.

**Tabela 2** – Porcentagem de perda de sólidos totais em cultivares de soja cozidas durante 5 minutos em autoclave à 127 °C.

Porcentagem de perda de sólidos totais	
Embrapa 48	24,35 AB
BRS 213	25,26 A
BRS257	27,17 A
BRS258	19,56 B
BRS 267	24,93 A
Dms	5,05
Cv%	11,06

Em relação à perda de sólidos totais, a BRS 258 foi a cultivar que apresentou a menor porcentagem (Tabela 2).

A cultivar Embrapa 48 foi a única que não diferiu estatisticamente da BRS 258, sendo que todas as outras cultivares apresentaram porcentagens de perda de sólidos totais superiores. A cultivar BRS 267 diferiu estatisticamente da BRS 258, entretanto, numericamente a porcentagem de perda foi muito próxima da Embrapa 48 que não diferiu da BRS 258.

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que após o cozimento:

- Quanto maior a porcentagem de cotilédones intactos ou cotilédones intactos apenas com rachadura menor a porcentagem de perda de sólidos totais.
- Quanto menor a porcentagem de cotilédones intactos sem casca e cotilédones partidos, menor a porcentagem de perda de sólidos totais.
- A BRS 258 foi a cultivar que apresentou a menor perda de sólidos totais, não diferindo apenas da Embrapa 48.

## Referências

BECKERT, O.P; MIGUEL, M.H; MARCOS FILHO, J. Absorção de água e potencial fisiológico em sementes de soja de diferentes tamanhos.

**Scientia Agrícola**, v 57, n 4, p 671-675, 2000.

AGUERRE, R.; SUAREZ; C. VIOLLAZ, P.E. Drying Kinetics of Rough Rice Grain. **Journal of Food Technology**, v.17, p.679-686, 1982.

QUAST, D.G. **Cálculo da intensidade de esterilização e de cozimento de alimentos**, camp. 1976, 59 p. (Instruções Técnicas nº14).

# Projeto de Melhorias para Atendimento ao Cliente do Auditório da Embrapa Soja

---

FAVARIN, A. M.<sup>1</sup>, GALERANI, G. S. M.<sup>2,1</sup> Universidade Estadual de Londrina – UEL, Rod. Celso Garcia Cid, km 380, CEP 86051-970,<sup>2</sup>Embrapa Soja.

O auditório, nas instituições públicas e privadas, constitui um importante instrumento para a prática do bom atendimento aos clientes internos e externos, demonstrando o conceito da Empresa durante a utilização do espaço. Segundo Teobaldo\*, os veículos de comunicação dirigida aproximativa permitem estabelecer relações pessoais diretas entre a instituição e um público ou segmento de público. (1996, p.121)\*.

A Embrapa Soja possui em suas instalações um auditório relativamente bem-equipado e com capacidade para realização de eventos simultâneos. Entende-se, por isso, que essa oportunidade deva ser aproveitada para a busca da excelência na utilização do local.

O espaço de aproximadamente 648 m<sup>2</sup>, denomina-se inteiramente como “auditório” ou “bloco do auditório”. Existem duas salas para a edição de vídeos e um depósito de equipamentos eletrônicos, conta atualmente com três salas para reuniões, um anfiteatro, comportando desde eventos de pequeno porte como também simpósios, jornadas, *workshops*, reuniões, exposições e mostras. Os eventos internos são maioria, mas muitos eventos externos também se desenvolvem no local.

O Projeto de Melhorias Para Atendimento ao Cliente do Auditório da Embrapa Soja foi desenvolvido tendo em vista que a demanda pela utilização do espaço vem aumentando gradativamente, porém, a forma de atendimento prestado aos usuários não tem sofrido mudanças. Entende-se que deve haver uma evolução no conceito de utilização do espaço, e que essa evolução deva ser precedida de um planejamento, com ações estratégicas que possam transparecer o esforço pela excelência no atendimento e no desenvolvimento de processos de trabalho.

Este trabalho tem como objetivo principal buscar a excelência no atendimento aos usuários do auditório, sistematizando os procedimentos de sua utilização e melhorando processos de trabalho no local. O projeto desenvolveu-se em sete grandes tópicos: Equipamentos e Materiais, Reformas e Adequações Físicas, Novos Serviços, Novos Processos de Trabalho, Sinalização e *Layout*, Divulgação das Atividades e Treinamento.

O primeiro deles refere-se aos Equipamentos e Materiais a serem adquiridos. Grande parte dos equipamentos solicitados foi comprada, tornando a realização dos serviços mais completa e profissional, suprimindo deficiências. Questões básicas como a quantidade insuficiente de jarras para água foram resolvidas. Outra questão resolvida e que melhorou muito a comunicação visual e o conforto de empregados e frequentadores do local refere-se à troca das mesas, cadeiras e estantes da recepção. Os móveis eram antigos e pouco funcionais, agora, com móveis novos, o aspecto do ambiente ficou mais agradável e dinâmico.

No segundo tópico, Reformas e Adequações, um dos maiores benefícios conseguidos, refere-se à criação de uma copa no espaço. A instalação de geladeira e pia possibilitou além do preparo de lanches, armazenamento e resfriamento de produtos, abastecimento de alimentos e água para os eventos.

Refetente aos Novos Serviços, terceiro assunto abordado no projeto, foram considerados a sistematização dos processos de trabalho, o acolhimento aos clientes e a comunicação com os diversos públicos do auditório. Foram indicados e implantados: formulários para solicitar serviços de limpeza, café e empréstimo de equipamentos; mural informativo divulgando a programação do espaço; mural de recados e mais um ramal telefônico, já que antigamente, havia apenas um ramal e isso prejudicava o atendimento aos clientes e o agendamento de eventos e reuniões.

O quarto tópico preocupou-se com a questão dos Novos Processos de Trabalho da equipe do auditório. Atento à sistematização e estabelecimento de métodos de trabalho, este projeto sugeriu e foi implementada, por exem-



plo, a reformulação do livro para controle de reserva de salas e anfiteatro do auditório, deixando claro os campos que deveriam ser preenchidos.

Novos *Layout* e Sinalização foram abordados com grande atenção no quinto item, visto que o seu descaso pode prejudicar a imagem de uma instituição – conceito negativo. Os adesivos das portas com o dizer “entre” eram muito antigos e foram trocados, bem como os adesivos indicativos do conteúdo das garrafas térmicas portando “café” e “chá”. O projeto prevê maior número de placas indicativas, como de identificação do auditório e de ocupação das salas. As medidas já adotadas e as que estão para acontecer visam melhorar a sinalização e a quantidade de informações visuais no local.

O sexto tópico é referente à importância da Divulgação das atividades do auditório para o público interno. O espaço recebe cerca de 8.000 visitantes por ano, porém, o trabalho de divulgação de suas atividades não era sistematizado. Foi sugerida e implantada, para exemplificar, a divulgação diária das atividades por meio do jornal interno *Em Dia* – veículo de comunicação dirigida mais lido pelo público interno – e divulgação da agenda semanal das atividades do auditório nos murais da unidade.

Sendo uma necessidade apontada na sondagem de opinião realizada em outubro de 2006 com os principais usuários do auditório do mesmo ano, o Treinamento é o sétimo e último item no projeto. Os resultados de pesquisa apresentam as informações sobre a opinião do público estudado, contribuindo para o estabelecimento de planos, programas e projetos de comunicação. Como explica Kunsch, “a pesquisa nos ajuda a buscar respostas para inúmeros questionamentos em relação à audiência (públicos) envolvida em determinado programa às ações comunicacionais (mensagens, canais, receptores) e a averiguar as expectativas dos públicos de forma científica e correta” (2003, p. 279).

Sugestões foram feitas para que os atendentes do auditório ofereçam um serviço padronizado, com o conhecimento dos recursos audiovisuais e pequenas instruções da língua inglesa, pois há visitas esporádicas de clientes internacionais. Esse item ainda não foi colocado em prática e quando implementado, permitirá um atendimento de forma profissional.

Como guia para as funções operacionais foi confeccionado o Procedimento Operacional Padrão (POP) que indica as ações necessárias ao bom funcionamento do auditório, incluindo formas de atendimento e utilização de recursos audiovisuais. O POP é um requisito em certificações de normas de qualidade. Confere-se essa exigência na certificação ISO 9001, no item C do artigo 4.2.1, orientando que os procedimentos de trabalho precisam ser documentados. Isso acontece para garantir a qualidade pelo padrão na realização do mesmo trabalho.

Em dezembro de 2007 será realizada avaliação do atendimento por meio de nova pesquisa junto aos mesmos clientes que responderam ao primeiro levantamento de opinião.

Mesmo sem o resultado da pesquisa final, podemos perceber que grande parte das propostas foi implementada até o momento e trouxeram melhorias. Então, é possível vislumbrar uma avaliação positiva do projeto, uma vez que o ambiente do auditório ficou mais aconchegante para seus clientes, os processos de trabalho foram sistematizados e os veículos de comunicação dirigida da empresa têm tornado públicos os acontecimentos naquele lugar, valorizando este importante e estratégico espaço da Embrapa Soja.

## Referências

ANDRADE, C.T.S. **Dicionário profissional de relações públicas e comunicação e glossário de termos anglo-americanos**. 2.ed. São Paulo: Summus, 1996.

FORTES, Waldyr Gutierrez. **Relações Públicas: processo, funções, tecnologia e estratégias**. 2. ed. São Paulo: Summus, 2003.

KUNSCH, M.M.K. **Planejamento de relações públicas na comunicação integrada**. São Paulo: Summus, 2003.

# **Métodos de Diagnóstico do Projeto de Melhorias de Processos do Serviço de Atendimento ao Cidadão (SAC) da Embrapa Soja (Via Internet)**

---

FAVARIN, A. M.<sup>1</sup>, GALERANI, G. S. M.<sup>2,1</sup> Universidade Estadual de Londrina – UEL, Rod. Celso Garcia Cid, km 380, CEP 86051-970,<sup>2</sup>Embrapa Soja.

O Serviço de Atendimento ao Cliente (SAC) é uma importante ferramenta de relacionamento das organizações públicas e privadas com seus públicos. Auxilia na manutenção da boa imagem e conceito da empresa, com o objetivo de solucionar reclamações e questionamentos realizados por seus clientes. Resultando, se bem planejado e executado, num instrumento que colabora efetivamente para a reputação positiva da empresa pelo consumidor ou cidadão interessado por informações em geral.

A criação, a sistematização e o planejamento do SAC pelas organizações, foram intensificados com a implantação do Código de Defesa do Consumidor (CDC), instaurado a partir da Lei nº 8078, de 1990. Como explicita o Instituto de Defesa do Consumidor (IDEC), o CDC é uma lei abrangente que trata das relações de consumo, definindo: responsabilidades e formas de reparação dos danos causados, mecanismos para o poder público atuar nas relações de consumo e as punições cabíveis, explicitada pelo próprio Instituto.

As organizações devem estar atentas ao Código de Defesa do Consumidor para o planejamento e atuação do seu SAC. A empresa precisa estar realmente disposta a sanar os problemas que venham a ocorrer com seus clientes, evitando processos judiciais gerados pela insatisfação de consumidores.

Além da preocupação com o aspecto legal, as organizações devem utilizar o SAC de forma estratégica, vislumbrando sua aproximação com os

consumidores. Cesca, 2000 explica que os SACs são criados para atender aos consumidores em todas as suas manifestações, visando manter um bom relacionamento empresa-consumidor, ou seja, mantê-lo sempre satisfeito e consumindo seus produtos/serviços, obtendo dele subsídios para o aprimoramento de seus produtos/serviços e, principalmente, mantê-lo longe dos serviços oficiais de defesa do consumidor, que podem gerar prejuízos de imagem/conceito e até financeiros e jurídicos.

Algumas empresas, atentas a esse contexto, transformaram o que poderia ser uma ameaça em oportunidade. Um eficiente serviço de atendimento ao consumidor torna o cliente mais próximo da organização, demonstrando, com o esclarecimento de dúvidas e/ou resolução de problemas, a preocupação que tem com cada cliente de forma individualizada.

A Embrapa Soja é uma empresa que tem grande preocupação com a satisfação de seus públicos. Como empresa pública, recebe consultas não apenas dos usuários diretos de suas tecnologias, mas também de pessoas interessadas em desenvolver um trabalho escolar, compartilhar uma idéia ou mesmo pedir apoio para determinadas causas. Assim, possui um Serviço de Atendimento ao Cidadão (SAC). Seus procedimentos de trabalho estão de acordo com o Manual de Atendimento ao Cidadão, elaborado pela Assessoria de Comunicação da Embrapa, em 1997.

São realizadas três formas de atendimento ao cidadão pela Embrapa Soja: telefônico, pessoal e correspondência, sendo esta última subdividida em correspondência eletrônica (*e-mail*) e postal (carta). Este projeto objetiva melhorias de processos com relação a todas as formas de atendimento mencionadas, porém, neste momento, apresentará diagnóstico focando o serviço de atendimento ao cidadão realizado por *e-mail*.

O SAC e-mail da Embrapa Soja foi criado em 26 de julho de 1999. Por não se tratar de uma empresa que comercializa produtos, esse serviço geralmente responde a perguntas técnicas realizadas pela população. Apenas no ano de 2006 foram 1.544 *e-mails* respondidos.

Como metodologia para diagnóstico dos problemas apresentados e sugestão de melhorias para este projeto foram utilizados o processo de

*benchmarking* e a bibliografia de Relações Públicas, criando um método sinérgico que soma a informação dos modelos de SAC de outras empresas ao conhecimento de material teórico de Relações Públicas para a realização deste trabalho.

O *benchmarking* é um processo positivo e pró-ativo de aprendizado, por meio do qual uma empresa examina como a outra realiza uma função específica a fim de melhorar como realizar a mesma ou uma função semelhante. O autor Robert Camp (1993), descreve as dez etapas de benchmarking:

1. Identificar os marcos de referência.
2. Identificar empresas comparativas.
3. Definir método e coletar os dados.
4. Determinar a lacuna de desempenho.
5. Projetar níveis de desempenho futuro.
6. Comunicar descoberta dos marcos de referência e obter aceitação.
7. Estabelecer metas funcionais.
8. Desenvolver plano de ação.
9. Implementar ações específicas e monitorar progresso.
10. Recalibrar marcos de referência.

Para nortear o trabalho prático é importante esclarecer os critérios para escolha das empresas utilizadas como fontes. O trabalho baseou-se nos SACs das empresas privadas que obtiveram as maiores pontuações na avaliação realizada pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), além do serviço de outras 39 unidades da empresa pública Embrapa espalhadas pelo país.

Foram enviados *e-mails* para as empresas privadas e para as unidades da Embrapa. Percebeu-se que alguns problemas que aconteciam com outras

empresas poderiam estar ocorrendo com a Embrapa Soja, por exemplo, a não entrega de alguns dos *e-mails* enviados sem mensagens de aviso sobre a falha. O problema foi detectado e será transmitido ao setor de informática, para resolução.

Uma outra medida foi a análise dos sites das organizações em questão e suas ferramentas de apoio ao SAC. Alguns modelos de fichas de cadastro de clientes, por exemplo, foram avaliados como positivos por facilitarem em grande medida o trabalho para os atendentes desse serviço na empresa. Também foi entendido que é importante disponibilizar o maior número possível de informações na página eletrônica da organização, fazendo com que o banco de respostas da Embrapa Soja fique disponível e, muitas vezes, não seja preciso o contato da população com o SAC da empresa.

A bibliografia de Relações Públicas serviu como base para o desenvolvimento da melhoria de relacionamento com os públicos implicados no Serviço de Atendimento ao Cidadão da Embrapa Soja. Nesse sentido, Cesca afirma que ouvir o consumidor, atender às suas solicitações e administrar suas reivindicações é também cuidar da imagem/conceito de qualquer empresa/organização, portanto, um assunto para o setor de Relações Públicas.

Foi observada a necessidade de mensurar a qualidade dos serviços prestados pelo SAC. Ela será realizada anualmente por meio de questionário enviado por *e-mail* aos clientes atendidos em datas próximas à execução da pesquisa de avaliação. Outra proposta baseia-se no público interno (especialmente pesquisadores) que auxilia no atendimento às consultas eletrônicas pelo SAC da Embrapa Soja. Sabendo que a ajuda prestada demanda tempo e visando um bom relacionamento com os que contribuem, é sugerida a criação do título de “Pesquisador amigo do SAC”. A proposta é que esse título seja conferido ao pesquisador que mais auxiliar o SAC durante o ano. O empregado agraciado com a distinção receberá um agradecimento formal, com carta emitida pela Chefia da Unidade, e o fato será divulgado nos veículos de comunicação interna da Unidade, como o jornal eletrônico Em Dia e os murais temático e diário da Empresa.

Para o êxito deste projeto, é fundamental entender a importância do *benchmarking*, pois essa ferramenta possibilita a visualização de modelos eficientes de SAC em outras empresas. Já a bibliografia de Relações Públicas mostra a importância dos bons relacionamentos para a instituição e sugere técnicas que fazem do SAC uma excelente ferramenta para o alcance de uma reputação adequada.

## Referências

CAMP, R.C., **Benchmarking**: O caminho da Qualidade, São Paulo, Pioneira, 1993.

FORTES, W.G. **Relações Públicas**: processo, funções, tecnologia e estratégias, São Paulo, Summus, 2003.

CESCA, C.G.G. Estratégias empresariais diante do novo consumidor: relações públicas e aspectos jurídicos, São Paulo: Summus, 2000.

# **Seletividade de Agroquímicos ao Parasitóide de Ovos *Trichogramma pretiosum* Riley(Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Condições de Laboratório**

---

PEREIRA, L.C.G.<sup>1</sup>; BUENO, A.F.<sup>2</sup>; BUENO, R.C.O.F.<sup>3</sup>; BOTTCHOR, A.P.C.<sup>1</sup>; PACHECO, V.M.<sup>1</sup>; <sup>1</sup>Uni-Anhanguera, Rua Profº Lázaro Costa, 456, Cidade Jardim, Goiânia, GO, CEP: 74415-420, Londrina, PR, CEP: 86001-970, lucascarlos\_bio@hotmail.com <sup>2</sup>Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Embrapa-Soja, C. postal 231, 86001-970, Londrina, PR, adeney@cnpso.embrapa.br <sup>3</sup>Depto. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, Cx. Postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP, rcdolive@esalq.usp.br

A utilização de agroquímicos seletivos é uma importante estratégia dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP), favorecendo a preservação dos inimigos naturais nos agroecossistemas. Quando comentamos a respeito da importância do uso de defensivos seletivos na agricultura, devemos considerar inseticidas, fungicidas e herbicidas, pois todos podem ter efeito sobre os agentes de controle biológico. Parasitóides do gênero *Trichogramma* são importantes agentes de controle biológico encontrados na maioria dos agroecossistemas, incluindo a cultura da soja. Portanto, este trabalho visou avaliar os efeitos que os inseticidas, herbicidas e fungicidas utilizados na cultura da soja podem causar sobre as fases de ovo, larva, pupa e adulto do parasitóide de ovos *T. pretiosum* em condições de laboratório.

Os ensaios foram realizados no laboratório de Entomologia da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO, sendo que a linhagem de *T. pretiosum* foi obtida por meio de ovos de *Pseudoplusia includens*



coletados em lavouras de soja no município de Rio Verde, GO, depois multiplicada em laboratório em ovos de *Anagasta kuehniella*. Os herbicidas, fungicidas e inseticidas utilizados foram diluídos em água nas doses recomendadas para a cultura da soja, considerando um volume de calda para aplicação de 200 litros/ha. Cartelas de 1 cm<sup>2</sup> contendo cerca de 250 ovos de *A. kuehniella* foram previamente oferecidos aos parasitóides por 24 horas para parasitismo; e em seguida, transferidas para tubos de vidro até o momento da aplicação dos tratamentos: fase ovo (0-72 horas); fase larva (96-144 horas); fase pupa (168-192 horas) após o parasitismo (Manzoni et al., 2007). Cartelas contendo os ovos parasitados, em cada fase de desenvolvimento do parasitóide separadamente, foram mergulhadas por cinco segundos nas caldas de inseticidas, herbicidas e fungicidas sendo, em seguida, mantidos em condições ambientais por cerca de uma hora para eliminação do excesso de umidade de sua superfície. Cartelas contendo ovos não parasitados, mergulhadas e secas pelo mesmo período de uma hora, foram oferecidas aos parasitóides adultos. Em seguida, as cartelas tratadas foram acondicionadas em sacos plásticos de 25 cm x 5 cm utilizando-se quatro repetições por tratamento, dispostas inteiramente ao acaso.

Os efeitos dos herbicidas, fungicidas e inseticidas sobre os parasitóides foram calculados pela fórmula:  $E (\%) = (1 - Vt/Vc) \times 100$ , sendo E a porcentagem de redução da viabilidade do parasitismo, Vt o valor da viabilidade do parasitismo médio para cada tratamento e Vc a viabilidade do parasitismo médio observado para o tratamento testemunha (água). A viabilidade do parasitismo foi avaliada e a redução no parasitismo foi classificada segundo as normas da *International Organization for Biological Control* (IOBC), sendo classe 1 – inócuo ( $E < 30 \%$ ), classe 2 – levemente nocivo ( $30 \% \leq E \leq 79 \%$ ), classe 3 – moderadamente nocivo ( $80 \% \leq E \leq 90 \%$ ) e classe 4 – nocivo ( $E > 99 \%$ ) (Manzoni et al., 2007).

De acordo com a Tabela 1 podemos verificar que os resultados obtidos para os fungicidas mostram que o tebuconazol + trifloxistrobina 200 + 100 gramas de ingrediente ativo (g. i.a)/ha foi classificado como nocivo (classe 4) para ovos e adultos, levemente nocivo (classe 2) para larvas e inócuo (classe 1) para pupa de *T. pretiosum*. Azoxistrobina + ciproconazol 60 + 24

**Tabela 1.** Efeito dos fungicidas (E) na redução da viabilidade do parasitismo de *T. pretiosum* em relação à testemunha (água) observada após o contato com o produto em diferentes fases de desenvolvimento do parasitóide.

Tratamento (i.a.) gramas ha <sup>-1</sup>	Ovo		Larva		Pupa		Adulto	
	E (%)	Classe	E (%)	Classe	E (%)	Classe	E (%)	Classe
Tebuconazol + trifloxistrobina 200 + 100	100	4	42,97	2	25,56	1	100	4
Azoxistrobina + ciproconazol 60 + 24	13,87	1	4,87	1	4,87	1	13,87	1
Azoxistrobina 50	6,18	1	13,05	1	13,05	1	6,18	1
Miclobutanil	25,66	1	11,45	1	11,45	1	25,66	1

g i.a/ha, azoxistrobina 50 g. i.a/ha e miclobutanil 125 g. i.a/ha foram inócuo (classe 1) para todas as fases do parasitóide.

Pela Tabela 2 podemos verificar que os resultados obtidos para os herbicidas mostraram que lactofen 165, fomesafen 250, fluazifop 125, glifosato 960 (Gliz) e glifosato 960 (Roundup Transorb) g. i.a/ha foram inócuo (classe 1) a todas as fases de *T. pretiosum*. Clorimuron 20 e glifosato 972 (Roundup Ready) g. i.a/ha foram nocivos (classe 4) à fase de ovo e inócuo (classe 1) às demais fases. Glifosato 960 g.i.a./ha (Roundup Original) foi levemente nocivo (classe 2) às fases de ovo e larva e inócuo (classe 1) às fases de pupa e adultos de *T. pretiosum*.

Podemos verificar na Tabela 3 que os resultados obtidos com os inseticidas foram: methoxyfenozide 19,2 g. i.a/ha, clorfluazuron 10 e 35 g. i.a/ha, alfacipermetrina e zetacipermetrina 10 g. i.a/ha, clorpirifós 240 g. i.a/ha, teflubenzuron 7,5 e 12 g. i.a/ha, metomil 86 g. i.a/ha e lufenuron 7,5 g. i.a/ha foram inócuos (classe 1) ou levemente nocivo (classe 2), enquanto espinosade 24 g. i.a/ha, esfenvalerate 7,5 g. i.a/ha e endosulfan 875 g. i.a/ha foram moderadamente nocivos (classe 3) ou nocivos (classe 4) à *T. pretiosum* nos diferentes estágios de desenvolvimento testados. Triflumuron 14,4 e 24 g. i.a/ha foram moderadamente nocivos ou nocivos (classes 3 e 4, respectivamente) para as fases de ovo e larva e inócuos ou levemente nocivos (classes 1 e 2, respectivamente) para a fase de pupa. Lambdacialotrina 3,75 g. i.a/ha e tiodicarbe 56,0 g. i.a/ha foram nocivos (classe 4) para a fase de ovo e levemente nocivos (classe 2) para

**Tabela 2.** Efeito dos herbicidas (E) na redução da viabilidade do parasitismo de *T. pretiosum* em relação à testemunha (água) observada após o contato com o produto em diferentes fases de desenvolvimento do parasitóide.

Tratamento (i.a.) gramas ha <sup>-1</sup>	Ovo		Larva		Pupa		Adulto	
	E (%)	Classe	E (%)	Classe	E (%)	Classe	E (%)	Classe
Clorimuron 20 (Classic)	100	4	18,45	1	18,50	1	29,18	1
Lactofen 165 (Cobra)	12,60	1	8,29	1	8,30	1	10,85	1
Fomesafen 250 (Flex)	8,33	1	13,87	1	13,90	1	11,59	1
Fluazifop 125 (Fusilade)	3,12	1	19,54	1	19,50	1	14,52	1
Glifosato 960 (Gliz)	18,52	1	16,74	1	16,70	1	21,72	1
Glifosato 972 (R. Ready)	100	4	23,49	1	23,50	1	17,87	1
Glifosato 960 (R. Transorb)	15,24	1	12,55	1	12,60	1	6,81	1
Glifosato 960 (R. Original)	37,21	2	31,71	2	11,30	1	11,28	1

**Tabela 3.** Efeito dos inseticidas (E) na redução da viabilidade do parasitismo de *T. pretiosum* em relação à testemunha (água) observada após o contato com o produto em diferentes fases de desenvolvimento do parasitóide.

Tratamento (i.a.) gramas ha <sup>-1</sup>	Ovo		Larva		Pupa	
	E (%)	Classe	E (%)	Classe	E (%)	Classe
Clorfluazuron 10,0	1,48	1	0	1	28,50	1
Clorfluazuron 35,0	6,66	1	4,5	1	44,31	2
Triflumuron 14,4	93,39	3	100	4	3,84	1
Triflumuron 24,0	96,36	3	100	4	54,63	2
Alfacipermetrina 10	60,09	2	47,74	2	27,77	1
Zetacipermetrina 10	44,96	2	13,47	1	11,29	1
Methoxyfenozide 19,2	4,47	1	5,26	1	6,96	1
Lambdacialotrina 3,75	100	4	33,59	2	31,91	2
Metomil 86,0	44,86	2	50,61	2	52,33	2
Metomil 322,5	95,66	3	90,83	3	68,96	2
Tiodicarbe 56,0	100	4	69,85	2	69,09	2
Clorpirifós 240	25,87	1	46,65	2	57,45	2
Lufenuron 7,5	58,78	2	15,23	1	37,73	2
Teflubenzuron 7,5	22,32	1	31,46	2	0	1
Teflubenzuron 12	46,95	2	38,72	2	20,25	1
Esfenvalerate 7,5	99,45	4	99,69	4	100	4
Endosulfan 525	38,2	2	87,25	3	22,87	1
Endosulfan 875	83,26	3	88,80	3	83,21	3
Espinosade 24	100	4	100	4	100	4

as fases de larva e pupa. Endosulfan 525 g. i.a/ha foi levemente nocivo (classe 2) para a fase de ovo, moderadamente nocivo (classe 3) para a fase de larva e inócuo (classe 1) para fase de pupa e metomil 322,5 g. i.a/ha foi moderadamente nocivo (classe 3) para as fases de ovo e larva e levemente nocivo (classe 2) para fase de pupa.

Os resultados apresentados mostraram que apesar de quase sempre seletivos, a aplicação de herbicidas, fungicidas e inseticidas, dependendo do produto escolhido, pode afetar o controle biológico. Sendo assim, os produtos menos nocivos aos inimigos naturais devem, quando possível, priorizados dentro do MIP- Soja.

## Referência

MANZONI, C. G.; GRÜTZMACHER, A.D.; GIOLO, F.P.; HÄRTER, W.R.; CASTILHOS, R.V.; PASCHOAL, M.D.F. Seletividade de Agroquímicos utilizados na produção integrada de maçã aos parasitóides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatan & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **BioAssay**, v. 2, n.1, p. 1-11, 2007.

# Caracterização Molecular de Eventos Transformados com a Construção *rd29A*: DREB1A

---

MARTINS, M.T.B.<sup>1,2</sup>; NEPOMUCENO, A.L.<sup>2</sup>; MARCELINO, F.C.<sup>2</sup>; FARIAS, J.R.B.<sup>2</sup>; ABDELNOOR, R.<sup>2</sup>; MARIN S.R.R.<sup>2</sup>; SILVEIRA, C.A.<sup>2</sup>; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.<sup>3</sup>; YAMANAKA, N.<sup>3</sup>; NAKASHIMA K.<sup>3</sup>; PAIVA, A.A.R.<sup>4</sup>; BENEVENTI, M.A.<sup>5</sup>; STOLF, R.<sup>6</sup>; OLIVEIRA, G.B.A. DE<sup>7</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, PR, e-mail- maitebazzo@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Embrapa Soja, Londrina, PR <sup>3</sup>Japan International Research Center for Agriculture Sciences – JIRCAS, <sup>4</sup>Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR; <sup>5</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; <sup>6</sup>Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP; <sup>7</sup> Universidade Norte do Paraná, Londrina, PR.

No Brasil, a soja é um dos principais produtos da economia, refletindo em vários setores da sociedade (CONAB, 2007). Estresses abióticos, como a seca, podem reduzir significadamente os rendimentos das lavouras e restringir as latitudes e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas (Nepomuceno et al., 2001).

A inserção do cassete de expressão *rd29A*: DREB1A de *A.thaliana* no genoma da soja é uma estratégia que tem demonstrado aumento de tolerância à seca em várias espécies, sendo importantes características dessa estratégia a utilização de um promotor estresse-induzido e a ativação de uma ampla categoria de genes envolvidos na defesa celular contra desidratação (Beneventi, 2006).

O objetivo deste trabalho foi gerar plantas contendo a construção *rd29A*: DREB1A, pelo método de biobalística, e verificar a estabilidade genética por meio da transmissão do transgene na geração T1, por caracterização molecular.

Os embriões foram co-transformados com a construção *rd29A*: DREB1A retirada do plasmídeo pela amplificação por PCR; e com o plasmídeo pAC321, que contém o cassete de expressão do gene AHAS, que confere resistência à herbicida da classe das imidazolinonas, utilizado para a seleção de plantas transformadas.

Foram transformados 2091 embriões, provenientes da cultivar BR16 sensível à seca, utilizando o protocolo desenvolvido por Aragão et al. (2002). Após o bombardeamento dos embriões, os eixos embrionários foram transferidos para meio que estimula o multibrotamento (MS/BAP) por 16 h. Depois desse período, foram transferidos para meio de seleção (MS/Imz), permanecendo por 40-60 dias com fotoperíodo de 16 h. Foram transferidos 1406 embriões para aclimação em substrato de areia: vermiculita (1:1), permanecendo por 15-30 dias, dos quais 1077 embriões foram para casa de vegetação.

Foram feitas análises de PCR de 942 indivíduos em T0, utilizando nas amplificações os conjuntos de *primers* Atrd29Dreb-R/ Atrd29Dreb-F, 29APH5-F / NostProx-R, para a construção *rd29A*: DREB1A e Ahas 1/ Ahas 2, para a construção pAC321 (Tabela 1). Confirmaram a inserção do transgene os eventos 3058B, 3069A e 3075D.

As reações de PCR foram realizadas em termociclador, com parâmetros de ciclagem 95° por 5 min., 95° por 1 min., 55° por 1 min. e 72° por 2 min. As reações de amplificação foram feitas em um volume final de 12,5 µl, contendo 2 µl de DNA molde; 10mM de Tris-HCl; 50mM de KCl; 1,6mM de MgCl<sub>2</sub>; 1,5mM de desoxinucleosídeotrifosfato – dNTPs; 1U de Taq-DNA polimerase e 2,5 µM de cada *primer Forward e Reverse*. Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em géis de agarose 1 % (p/v), contendo brometo de etídeo para corar o DNA e visualizados por meio de luz ultravioleta.

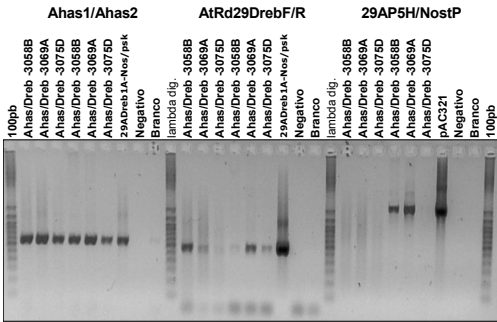
Foram semeadas, em casa de vegetação, oito sementes de cada evento T0 para a análise de estabilidade genética na geração T1, sendo que no evento 3075D duas sementes não germinaram.

**Tabela 1.** Sequência dos *primers* utilizados para amplificação dos cassetes trans-genes no genoma das plantas de soja transformadas e tamanho do produto de amplificação esperado.

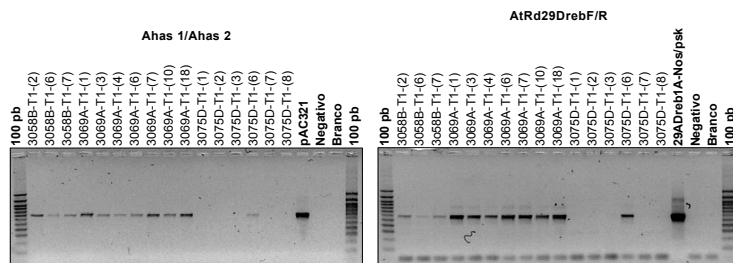
Primer	Sequência	Amplificação (kb)
Ahas 1	ACT AGA GAT TCC AGC GTC AC	0,69
Ahas 2	GTG GCT ATA CAG ATA CCT GG	
Atrd29Dreb-F	CCA ATA GAC ATG GAC CGA CTA CT	0,59
Atrd29Dreb-R	GTT CTC TAA CCT CAC AAA CCC ACT	
29AP5H-F	GGG AAG CTT GCC ATA GAT GCA ATT CAA TCA AAC T	1,67
NostProx-R	GTT TGA ACG ATC GGG GAA AT	

Para a análise confirmativa da inserção do transgene na geração T1 ex-traiu-se o DNA seguindo o protocolo de Doyle e Doyle. Foram utilizados na amplificação os conjuntos de primers Atrd29Dreb-R/ Atrd29Dreb-F para a construção rd29A: DREB1A e o conjunto de primers Ahas 1/Ahas 2 para a construção pAC321. As reações de PCR foram realizadas em termociclador, com os mesmos parâmetros de ciclagem e condições de PCR citados anteriormente.

Na Fig. 1, observa-se a confirmação do transgene nos eventos 3058B, 3069A e 3075D(T0). De acordo com a Fig. 2 observa-se que em 11 indivíduos na geração T1 foi confirmada a inserção do transgene, sendo três indivíduos do evento 3058B, sete indivíduos do evento 3069A e um indivíduo do evento 3075D.



**Fig. 1.** Confirmação da presença do cassete transgene rd29A: DREB1A nos eventos 3058B, 3069A e 3075D. O DNA das plantas foi amplificado por PCR utilizando os primers Ahas 1/Ahas 2, 29APH5-F / NostProx-R e AtRd29Dreb-R/ Atrd29Dreb-F.



**Fig. 2.** Confirmação da presença do cassete transgene rd29A: DREB1A na geração T1 dos eventos 3058B, 3069A e 3075D. O DNA das plantas foi amplificado por PCR utilizando os primers Ahas 1/Ahas 2 e AtRd29Dreb-F/R/ AtRd29Dreb-F.

Por meio do processo de transformação por biobalística, foi possível inserir a construção rd29A: DREB1A em soja, gerando os eventos 3058B, 3069A e 3075D. A transmissão do transgene para a primeira geração foi verificada nos três eventos, confirmando a estabilidade genética.

## Referências

- BENEVENTI, M.A. Transformação genética em soja pela inserção da construção gênica contendo a região promotora do gene rd29a e a região codante do gene DREB1A de *Arabidopsis thaliana*, visando tolerância à seca. 2006. 126 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- CONAB-Companhia Nacional de Pesquisa da Soja. Disponível em <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em agosto de 2007.
- DOYLE, J. J. e DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. *Phytochem. Bull. Bot. Soc. Amer.* n°19, p.11-15, 1987.
- NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento.* n° 23, p.12-18, 2001.



# **Determinação de Isoflavonas e Inibidor de Tripsina de Kunitz em Grãos e Extratos Solúveis de Soja, obtidos de Cultivares Especiais para Alimentação Humana**

---

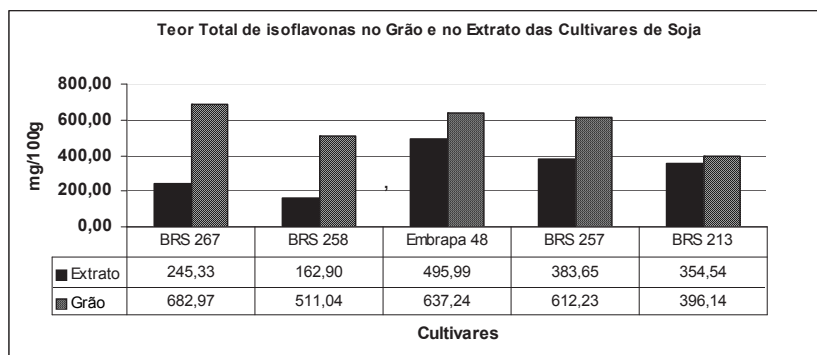
OLIVEIRA, E.F.<sup>1</sup>; SILVA, S.O.<sup>1</sup>; SILVA, J.B.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, G.B.A.<sup>2</sup>, CAMPOS-FILHO, P.J.<sup>2</sup>; MANDARINO, J.M.G.<sup>3</sup>; CARRÃO-PANIZZI, M.C.<sup>3</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina PR; <sup>2</sup>Universidade Norte do Paraná – UNOPAR; <sup>3</sup>Embrapa Soja.

A produção de soja no Brasil está voltada para exportação de grãos, alimentação animal e para consumo humano. Apesar de seu elevado valor nutricional, os grãos de soja apresentam fatores antinutricionais como os inibidores de protease (inibidor de tripsina de Kunitz-KSTI), que são reduzidos no processamento. O inibidor de tripsina liga-se à enzima tripsina, responsável pela digestão de proteínas, impedindo assim a absorção dessas proteínas, causando redução no crescimento e desenvolvimento de humanos e de animais (Rackis, 1981). Os inibidores de proteases são termolábeis, sendo, portanto, parcialmente destruídos pelo processamento térmico como a torra ou cozimento dos grãos (Nelson *et. al*, 1979). Esses compostos possuem ação antioxidante complexando radicais livres e podem atuar na redução dos riscos de alguns tipos de câncer, bem como no aumento da imunocompetência do organismo (Messina *et. al.*, 1994). As isoflavonas têm sido estudadas quanto aos seus efeitos biológicos benéficos à saúde humana, tais como: atividade estrogênica, antiestrogênica (sintomas da síndrome de climatério e da osteoporose) (Dalais *et. al.*, 1998; Molteni *et. al*, 1995), hipocolesterêmica (Anthony *et. al.*, 1996) e anticarcinogênica (Coward *et. al.*, 1993). A soja pode conter até doze tipos de isoflavonas, as formas agliconas daidzeína, gliciteína e genisteína, os â-glicosídeos conjugados: daidzina, glicitina, genistina, acetil-daidzina, acetil-glicitina, acetil-genistina,

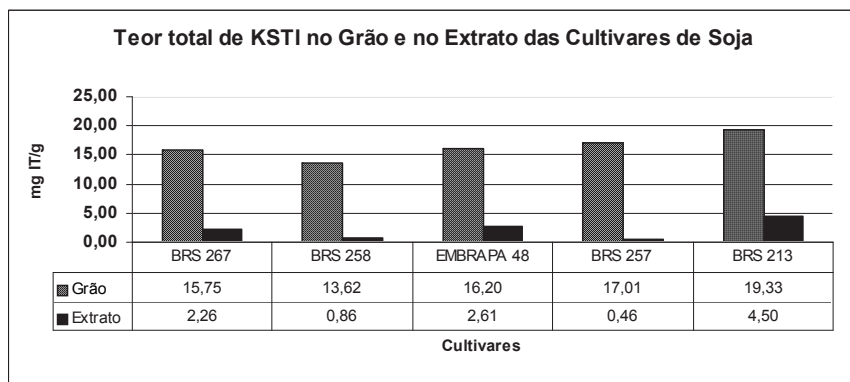
malonil-daidzina, malonil-glicitina, malonil-genistina (Kudou et. al., 1991). Este estudo teve como objetivo avaliar os teores de inibidor de tripsina de Kunitz e isoflavonas nos grãos de soja e nos respectivos extratos hidrossolúveis.

Para a determinação dos teores das isoflavonas e o inibidor de tripsina (KSTI), foram utilizadas as cultivares: BRS 257, BRS 213, BRS 258, BRS 267 e Embrapa 48. O extrato hidrossolúvel ou “leite” de soja foi produzido no equipamento SOJAMAC, modelo MJ720. No processo de extração, os grãos de soja selecionados foram macerados por duas horas a 50 °C. Logo após, a água de maceração foi descartada e os grãos foram moídos com 2 L de água. Os grãos de soja foram moídos em moído analítico refrigerado e desengordurados a frio com n-hexano. A atividade do inibidor de tripsina de Kunitz nas cultivares de soja e em seus respectivos extratos foi determinada por ensaio enzimático (Kakade et. al., 1974) modificado por Hamerstrand et. al., 1981), utilizando como substrato o benzoyl-DL-arginina p-nitroanilida (BAPA), conforme descrito pela AOAC (1976). O método se baseia na quantificação de unidades de tripsina inibidas (UTI) quando o inibidor (amostra) é adicionado ao sistema enzima-substrato (tripsina-BAPA). Uma unidade de tripsina (UT) é arbitrariamente definida como um aumento de 0,01 unidade de absorbância a 410 nm das condições do teste. A separação e a quantificação das isoflavonas nos grãos e nos respectivos extratos foram realizadas em coluna de fase reversa do tipo ODS C18 (YMC Pack ODS-AM Column), utilizando um cromatógrafo líquido da marca Waters, modelo 2690, com injetor automático de amostras. Para separação das isoflavonas foi utilizado o sistema de gradiente linear binário tendo-se como fases móveis metanol contendo 0,025 % de ácido TFA (ácido trifluoroacético) (solvente A) e de H<sub>2</sub>O destilada deionizada ultrapura contendo 0,025 % ácido TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 20 % para o solvente A, atingindo-se 100 % em 40 min e retornando à 20 % novamente em 41 min. O tempo total de corrida foi de 60 min. O fluxo da fase móvel foi de 1mL/min e a temperatura durante a corrida foi de 25 °C. Para a detecção das isoflavonas foi utilizado o detector de arranjo de fotodiodo da marca WATERS, modelo 996, ajustado para o comprimento de onda de 260 nm. Para a identificação das isoflavonas

foram utilizados padrões de daidzina, glicitina, genistina, malonil-daidzina, malonil-glicitina, malonil-genistina, acetil-daidzina, acetil-glicitina, acetil-genistina, daidzeína, gliciteína e genisteína todas da marca SIGMA. A solução para curva de calibração de cada isoflavona foi preparada em metanol nas seguintes concentrações: 0,00625 mg/mL; 0,0125 mg/mL; 0,0250 mg/mL; 0,0500 mg/mL e 0,1000 mg/mL. A quantificação das isoflavonas por padronização externa (área dos picos) foi realizada utilizando os padrões como referência de acordo com a metodologia preconizada por (Berhow, 2002).



**Fig. 1** - Valores médios totais das isoflavonas do grão de soja e de seus respectivos extratos hidrossolúveis. Média obtida de três repetições.



**Fig. 2** - Teores médios de inibidor de tripsina Kunitz (KSTI) nos grãos de soja e nos seus respectivos extratos hidrossolúveis, Embrapa Soja, 2007.

**Tabela 1** - Valores médios de Isoflavonas do grão de soja e de seus respectivos extratos hidrossolúveis. (E) Extrato e (G) Grão. Média obtida de três repetições.

Isoflavonas	Quantidade de Isoflavonas (mg/100g)											
	BRS 267				BRS 258				Cultivares Embrapa 48			
	E	G	E	G	E	G	E	G	E	G	E	G
G-Dai	40,96	81,69	22,25	75,12	30,62	69,01	48,90	42,34	60,59	53,07		
G-Gly	8,00	13,60	6,41	7,16	9,04	19,90	13,41	11,07	11,31	12,81		
G-Gen	61,80	115,12	30,21	89,69	31,44	85,70	59,47	46,20	58,32	52,32		
Total Glcosídeos	<b>110,76</b>	<b>210,41</b>	<b>58,87</b>	<b>171,97</b>	<b>71,10</b>	<b>174,61</b>	<b>121,78</b>	<b>99,61</b>	<b>130,22</b>	<b>118,20</b>		
M-Dai	28,48	112,74	16,64	106,11	134,57	132,06	75,86	158,97	67,08	66,05		
M-Gly	9,73	22,12	6,21	18,19	37,35	44,15	25,94	50,87	19,42	20,53		
M-Gen	64,57	231,5	44,85	194,4	237,55	257,34	144,00	280,97	105,94	122,56		
Total Malonilis	<b>102,78</b>	<b>366,36</b>	<b>67,70</b>	<b>318,70</b>	<b>409,47</b>	<b>433,55</b>	<b>245,80</b>	<b>490,81</b>	<b>192,44</b>	<b>209,14</b>		
Dai	4,55	36,57	10,86	5,60	2,44	10,63	5,56	3,46	4,73	25,81		
Gly	22,48	14,88	2,32	11,13	11,63	4,14	3,18	15,64	24,00	5,59		
Gen	4,76	54,76	23,14	3,64	1,34	14,29	7,33	2,71	3,16	37,40		
Total Agliconas	<b>31,79</b>	<b>106,21</b>	<b>36,32</b>	<b>20,37</b>	<b>15,41</b>	<b>29,06</b>	<b>16,07</b>	<b>21,81</b>	<b>31,89</b>	<b>68,80</b>		
TOTAL	<b>245,33</b>	<b>682,97</b>	<b>162,90</b>	<b>511,04</b>	<b>495,99</b>	<b>637,24</b>	<b>383,65</b>	<b>612,23</b>	<b>354,54</b>	<b>396,14</b>		

O teor total de isoflavonas no extrato hidrossolúvel sofreu redução, quando comparado com os obtidos nos grãos. Com relação aos grupos de isoflavonas, verifica-se redução acentuada nos grupos Malonil (daidzina, glicitina e genistina), os quais são compostos termolábeis. Com relação aos teores de KSTI, houve uma redução de cerca de 88 % do teor original, conforme esperado, devido ao processamento térmico durante a extração do “leite”.

## Referências

ANTHONY, M. S. ; CLARKSON, T. B. ; BULLOCK, B. C. Soy protein versus soy phytoestrogens (isoflavones) in the prevention of coronary artery arteriosclerosis of cynomolus monkeys. *Circulation*, 94: abstract, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. Official methods of analysis. Washington DC, 1975. 1094p.

BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (Ed). *Flavonoids in the living cell*. New York: Klusher Academic, 2002. p. 61-76. (Adv. Exp. Méd Biol. v. 505).

COWARD, L.; BARNES, N.C.; SETCHELL, K.D.R.; BARNES, S. Genistein, Daidzein, and their glucoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, n.41, p.1961-1967, 1993.

DALAIS, F. S. ; RICE, G. E. ; BELL, R. J. Dietary soy supplementation increases vaginal cytology maturation index and bone mineral content in postmenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 68 (suppl.), p. 15188, 1998.

HAMERSTRAND, G.E.; BLACK, L. T.; GLOVER, J. D. Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, v. 51, n. 1, p. 42-45, 1981.

KAKADE, M. L.; RACKIS, J.J.; McGHEE, J. E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, v. 51, n. 3 p. 376-382, 1974

KUDOU, S.; FLEURY, Y.; WELTI, D.; MAGNOLATO, D.; UCHIDA, T.; KITAMURA, K.;

OKUBO, K. Malonil isoflavone glycosides in soybeans seeds (*Glycine max* (L.) Merrill). *Agricultural and Biological Chemistry*, v.55, p.2227-2233, 1991.

MESSINA, M.; MESSINA, V.; SETCHELL, K. The simple soybean and your health. New York: Avery, 1994. 260 p.

MOLTENI, A. ; BRISIO-MOLTENE, L.; PERSKY, V. In vitro hormonal effects of soybean isoflavones. *Journal of Nutrition*, v. 125, p. 751S-756S. 1995.

RACKIS, J. J. Significance of soy tripsin inhibitors in nutrition. *Journal of the American Oil Chemists Society*, Champaign, v. 58, n. 3 p. 495-501 , 1981.

# **Composição Centesimal e Solubilidade da Proteína de Cultivares de Soja Especiais para Alimentação Humana no Processamento de Extrato Solúvel de Soja.**

---

SILVA, S.O<sup>1.</sup>; OLIVEIRA, E.F<sup>1.</sup>; OLIVEIRA, G.B.A<sup>2.</sup>; SILVA, J.B<sup>1.</sup>; CAMPOS-FILHO, P.J<sup>2.</sup>; MANDARINO, J.M.G<sup>3.</sup>; CARRÃO-PANIZZII, M.C<sup>3.</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina PR;<sup>2</sup> Universidade Norte do Paraná – UNOPAR;<sup>3</sup> Embrapa Soja

A soja [*Glycine max (L) Merril*] apresenta elevado valor econômico e agrícola devido a vários fatores, entre eles a sua adaptação em solos e climas diversos, efeitos benéficos à saúde e ampla diversidade de uso, seja na alimentação humana, na alimentação animal, ou como matéria-prima industrial de produtos não-alimentícios (Liu, 1999). O consumo de soja e do extrato hidrossolúvel “leite”, vem aumentando devido ao seu elevado valor nutricional, associação na profilaxia de problemas cardiovasculares e na redução do nível de colesterol. O extrato é uma bebida alternativa para aqueles que são intolerantes à lactose, não contém colesterol e tem menos gordura que o leite de vaca (Nelson & Steinberg, 1978). O objetivo do trabalho foi comparar a composição química dos grãos e dos extratos de soja produzidos de cultivares destinadas à alimentação humana e determinar o índice de solubilidade e dispersibilidade protéica dos grãos.

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-Químicas da Embrapa Soja em Londrina-PR. Foram utilizadas as cultivares de soja: BRS 213 e BRS 257 (desprovidas das enzimas lipoxigenases) (Carrão-Panizzi et al., 2002); BRS 258 e Embrapa 48 (convencionais) e BRS 267 que apresenta sabor suave e adocicado e pode ser utilizada como

hortaliça (Carrão-Panizzi et al., 2006). Os extratos foram produzidos no equipamento SOJAMAC, modelo MJ 720. No processo, os grãos selecionados foram macerados por duas horas a 50 °C. Logo após, a água de maceração foi descartada e os grãos foram moídos com 2 L de água. As análises de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram realizadas nos grãos e nos extratos de soja, conforme metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2005). O fator de correção para o cálculo do conteúdo de proteínas foi de 6,25. O teor de carboidratos totais foi calculado por diferença dos demais constituintes. O Índice de Solubilidade de Nitrogênio (ISN) e o Índice de Dispersibilidade Protéica (IDP) analisados nos grãos foram determinados de acordo com a metodologia oficial AOCS (1980).

Na Tabela 1 são apresentados os resultados médios da composição centesimal dos grãos de soja. A composição química das cultivares de soja em estudo aproxima-se dos valores observados por COSTA et al. (1973/74) que encontraram nos grãos maduros 40,7 % de proteína; 22,7 % de óleo; 5,8 % de cinzas e 30,8 % de carboidratos em base seca. Os teores de lipídeos e proteínas são influenciados por uma série de fatores, entre eles, o genótipo da planta, as condições ambientais, o local de plantio e a época da safra (LIU, 1999). O ISN e de IDP são usados como guia prático para saber a funcionalidade da proteína. Quanto maior a solubilidade, menor o grau de desnaturação da proteína, assim, cultivares de soja que apresentam estes requisitos (valores altos de ISN e IDP) podem ser recomendadas para o uso em produtos cárneos, de confeitaria e de chocolataria, sopas, molhos, cremes e bebidas (Van De Kamer & Van Ginkel, 1952). Carrão-Panizzi et al. (2006) verificaram maiores valores dos ISN e IDP para os grãos da BRS 213 cultivados em Ponta Grossa indicando influência de temperaturas elevadas. No presente trabalho foi encontrado maior valor de ISN para a cultivar BRS 258, que também apresentou maior teor de proteínas (Tabela 1). A cultivar Embrapa 48 mostrou o maior valor para o IDP contudo, menor conteúdo protéico tanto nos grãos como no extrato solúvel (Tabelas 1 e 2).



O extrato de soja produzido a partir da cultivar BRS 267 apresentou maior teor de proteínas (Tabela 2) e valores de 74,25 % para o ISN e 75,71 % para o IDP. O menor conteúdo de lipídios foi observado para o extrato da cultivar BRS 257, que também, mostrou menor valor de IDP (50,07 %). ROSENTHAL et al. (2002) trabalhando com cultivares próprias para alimentação humana encontraram nos extratos de soja valores de 2,86 % de proteína e 1,53 % de lipídeos. CIABOTTI et al. (2005) ao produzirem o extrato de soja da cultivar BRS 213 obtiveram um teor de proteínas de 3,26 % porém, a proporção soja : água foi de 1 : 10 enquanto neste trabalho foi usado a proporção de 1 : 20 diminuindo, assim, as concentrações protéicas dos extratos.

## Conclusões

Os grãos de soja das cultivares BRS 257, BRS 258 e BRS 267 apresentaram valores superiores a 70 % para o índice de solubilidade protéica e conteúdo de proteína, portanto, podem ser recomendados para o uso em produtos cárneos, de confeitaria e de chocolataria, sopas, molhos, cremes e bebidas. Sugere-se a diminuição da proporção de soja : água no preparo dos extratos para otimizar a composição dos produtos.

**Tabela 1** – Valores médios da composição centesimal (%), ISN (Índice de Solubilidade de Nitrogênio) (%) e IDP (Índice de Dispersibilidade Protéica) (%), nos grãos de cultivares de soja.<sup>1</sup>

<i>Cultivares</i>	<i>Umidade</i>	<i>Proteínas</i>	<i>Lipídios</i>	<i>Cinzas</i>	<i>Carboidratos</i>	<i>ISN</i>	<i>IDP</i>
BRS 257	5,95	40,49	20,50	4,63	28,43	78,04	50,07
BRS 258	5,99	41,76	19,10	4,36	28,79	80,25	62,47
BRS 213	5,81	39,61	19,90	4,42	30,26	68,10	73,06
BRS 267	5,89	41,72	16,10	4,78	31,51	74,25	75,71
Embrapa 48	5,88	38,08	20,50	4,11	31,43	71,43	84,85

<sup>1</sup>valores são médias de três repetições**Tabela 2** – Valores médios da composição centesimal (%) dos extratos das cultivares de soja<sup>1</sup>.

<i>Extrato de soja</i>	<i>Umidade</i>	<i>Proteínas</i>	<i>Lipídios</i>	<i>Cinzas</i>	<i>Carboidratos</i>
BRS 257	96,59	1,73	0,79	0,19	0,70
BRS 258	96,69	1,80	0,90	0,17	0,44
BRS 213	96,47	1,90	1,06	0,21	0,36
BRS 267	96,37	2,04	0,95	0,20	0,44
Embrapa 48	96,53	1,69	1,13	0,17	0,48

<sup>1</sup>valores são médias de três repetições

## Referências

AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY. **Official and tentative methods of the American Oil Chemist's Society**. 3.ed. Champaign: AOCS, 1980.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; ALMEIDA, L.A.; MIRANDA, L.C.; KIIHL, R.A.S.; MANDARINO, J.G.M.; ARIAS, C.A.A.; YORONORI, J.T.; ALMEIDA, A.M.R.; TOLEDO, J.F.F. BRS 213 - nova cultivar de soja para alimentação humana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2.; MERCOSOJA 2002, 2002, Foz do Iguaçu. **Perspectivas do agronegócio da soja: resumos**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 201. (Embrapa Soja. Documentos, 181). Organizado por Odilon Ferreira Saraiva, Clara Beatriz Hoffmann-Campo.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; PÍPOLO, A. E.; ALMEIDA, L. A.; MANDARINO, J. M. G.; KASTER, M.; ARIAS, C. A. A.; CARNEIRO, G. E. de S.; TOLEDO, J. F. F. de; MIRANDA, L. C.; YORINORI, J. T.; DIAS, W. P.; ALMEIDA, A. M. R.; DOMIT, L. A.; BENASSI, V. de T; ARANTES, N. E.; OLIVEIRA, A. C. B. de; BROGIN, R. L.; LAMBERT, E. de S.; BERTAGNOLLI, P. F.; RANGEL, M. A. S.; SOUZA, P. I. de M. de. BRS 267: cultivar de soja para alimentação humana. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 28., 2006, Uberaba. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional: Fundação Triângulo, 2006. p. 315-317. (Embrapa Soja. Documentos, 272).

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; CRANCIANINOV, W. S.; MANDARINO, J. M. G. Índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) e índice de dispersibilidade de proteína (IDP), em cultivares de soja, produzidas em Londrina e em Ponta Grossa. Mesas Científico-Técnicas / Resúmenes Expandidos III Congresso de Soja do Mercosul - **Mercosoja 2006**. Rosário, Argentina, ACSOJA, p.297-299, 2006.

CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M.F.P.; MANDARINO, J.M.G.; TARONE, A.G. Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenases. **Ciência agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 920-929, set./out., 2006.

COSTA, S.I.; MIYA, E.E.; FUJITA, J.T. Composição química e qualidade organolépticas e nutricionais das principais variedades de soja cultivadas no Estado de São Paulo. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.5, p.305-319, 1973/74.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, IV edição, p. 1018, 2005.

LIU, K. **Soybeans**: chemistry, technology and utilization. New York: Chapman & Hall, 1999. p. 532.

NELSON, A.I.; STEINBERG, M.P.; WEI, L.S. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, v.41, n.1, p.57-61, 1976.

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; CABRAL, L.M.C.; CABRAL, L.C.; FARIAS, C. A. A.; DOMINGUES, A. M. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control**, Oxford, v.14, n.3, p.187-192, Apr.2002.

VAN DE KAMER, J.H.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 29, n. 4, p. 239-251, July/Aug. 1952.

# **Comparação da Composição Química entre Cultivares de Soja Isogênicas Convencionais e Transgênicas.**

---

MARDEGAN, F. U.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J.M.G.; OLIVEIRA, E.F.; SILVA, J.A.V.; Embrapa Soja, Caixa Postal 231, Cep 86001-970, Londrina-Pr, [fabrício@cnpso.embrapa.br](mailto:fabrício@cnpso.embrapa.br).

## **Introdução**

Os OGMs (organismos geneticamente modificados) ou transgênicos têm seu genoma alterado pelo processo de transferência de um ou mais genes de um organismo para outro. Essa técnica pode contribuir de forma significativa para a produção de alimentos, fibras e óleos, como também na fabricação de fármacos e outros produtos industriais (Nodari & Guerra, 2000). Essa tecnologia gerou severas críticas quanto ao método empregado para obtenção dos eventos transgênicos, principalmente quanto aos efeitos não intencionais, por exemplo alergenicidade, que esses produtos poderiam causar quando utilizados na alimentação humana e animal e os impactos que eles podem proporcionar na natureza. A soja possui em sua composição química proteínas (40 %), lipídios (20 %), minerais (5 %) e carboidratos (34 %). Nessa composição, também há inibidores de proteases (Kunitz e Bowman-Birk), capazes de inibir as atividades da tripsina, quimotripsina, amilase e carboxipeptidase (Bender, 1987; Xavier-Filho & Campos, 1989); e isoflavonas, que podem ocorrer em diversas formas moleculares tais como: beta-glicosídeos e malonil, que ocorrem nos grãos e na farinha de soja; os acetil derivados e as agliconas, que são formados durante o processamento da soja ou no metabolismo da soja no organismo. Esses compostos possuem atividade antiestrogênica e outras propriedades biológicas que podem influenciar processos bioquímicos e fisiológicos (Setchell, 1998). Este trabalho teve por objetivo comparar a composição química de cultivares de soja convencionais e transgênicas. Foram utilizadas EMBRAPA 58,

EMBRAPA 59, BRS 133, as quais são parentais das cultivares transgênicas também analisadas: BRS 242 RR - [Embrapa 58\*5 X (E96-246 x Embrapa 59)], BRS 243 RR - [(Embrapa 59\*3 x E96-246) x BRS 66], BRS 244 RR - (Embrapa 59\*6 x E96-246), BRS 245 RR - (BRS 133\*6 x E96-246)

## Materiais e Métodos

As análises para determinar a composição química das sementes das cultivares de soja foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas da Embrapa Soja, em Londrina, PR. O teor de óleo foi determinado por ressonância magnética nuclear – RMN. As amostras de sementes com 3,5 a 4,5 g foram previamente armazenadas em câmara fria a 18 °C e 55 % de umidade relativa, por 20 dias, para homogeneizar a umidade das sementes. O teor de proteína foi analisado em amostras de 100 mg de sementes previamente secas e moídas. Foi determinado o total de nitrogênio e multiplicado pelo fator de conversão igual a 6,25, de acordo com o método micro Kjeldahl, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1985. O teor de carboidratos foi obtido por diferença:  $[100 - (\text{proteína} + \text{lipídios} + \text{cinzas} + \text{umidade})]$ . As cinzas ou resíduo mineral fixo foram determinadas segundo a metodologia descrita nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1985, por meio da pesagem de 5 g de sementes previamente desidratadas e moídas, que foram levadas à mufla para calcinação a uma temperatura de 550 °C por aproximadamente 7 horas ou até que as cinzas estivessem completamente brancas. A umidade foi determinada em aparelho OHAUS, modelo MB45, onde 1 g de sementes previamente desidratadas e moídas foi submetido a uma temperatura de 125 °C, por um minuto. Todos os resultados foram expressos em porcentagem. O perfil e o teor das isoflavonas foram determinados pela técnica de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) de acordo com a metodologia preconizada por Carrão-Panizzi et al., 2002 e Berhow, 2002. A metodologia utilizada na quantificação do inibidor de tripsina nas sementes de soja analisadas foi aquela preconizada por Kakade, M.L. et al. (1974) e modificada por Hamerstrand, G.L. et al. (1981). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

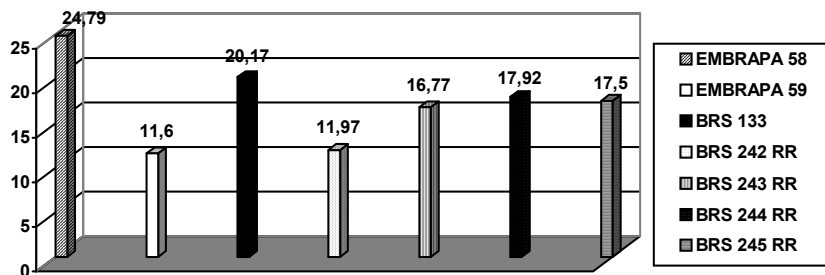
## Resultados e Discussão

Entre as cultivares analisadas foram evidentes as diferenças na composição química. O teor de proteína das cultivares transgênicas foi reduzido em relação ao teor observado nas cultivares convencionais, ao contrário do teor de óleo, com exceção da cultivar BRS 242 RR (Tabela 1). A cultivar convencional EMBRAPA 58, da qual a BRS 242 RR deriva-se, foi aquela que apresentou o teor mais elevado de óleo. Para cinzas e umidade os valores foram próximos, não havendo diferença significativa para as cinzas. Os teores de carboidratos, relativos às concentrações dos outros compostos, mostraram que a EMBRAPA 58, que apresentou maiores teores de proteína e óleo, teve menor teor de carboidratos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição Centesimal das Cultivares

CULTIVARES	PROTEÍNA	LIPÍDIO	CINZAS	UMIDADE	CARBOIDRATOS
EMBRAPA 58	40,72% a	25,22% a	4,85% a	8,13% a	21,09% d
EMBRAPA 59	41,03% a	21,8% bcd	4,25% a	7,49% ab	25,42% c
BRS 133	37,39% b	19,83% d	4,64% a	7,82% a	30,32% b
BRS 242 RR	36,39% b	20,92% cd	4,45% a	7,94% a	30,30% b
BRS 243 RR	31,58% d	22,21% bc	5,15% a	6,85% bc	34,21% a
BRS 244 RR	33,99% c	22,39% bc	5,24% a	6,58% c	31,79% ab
BRS 245 RR	34,00% c	23,03% b	4,46% a	7,54% ab	30,97% b
Dms =	2,28	2,04	1,00	0,78	2,93
Cv % =	2,25	3,29	7,56	3,77	3,61

Média/Valores seguidos por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente



**Fig. 1.** Teores de Inibidor de Tripsina em Cultivares de Soja (mg/g).

A Embrapa 58 e a cultivar BRS 133, apresentaram os maiores teores de inibidor de tripsina, os quais foram reduzidos nas cultivares transgênicas correspondentes, BRS 242 RR e BRS 245 RR, respectivamente (Fig 1). A cultivar Embrapa 59 apresentou o menor teor desses compostos, havendo aumento dos teores de inibidor nas cultivares transgênicas correspondentes. BRS 243 RR e BRS 244 RR (Fig 1). Esses resultados controversos sugerem a necessidade de outras avaliações para explicar essas diferenças.

A cultivar Embrapa 59 também apresentou um comportamento diferenciado para os teores de isoflavonas totais, os quais foram os mais altos e iguais ao da cultivar BRS 244 RR, ao mesmo tempo em que se reduziram na BRS 243 RR (Tabela 2). As cultivares transgênicas, BRS 242 RR e BRS 245 RR, derivadas de Embrapa 58 e BRS 133, respectivamente, tiveram os teores de isoflavonas aumentados (Tabela 2).



Tabela 2. Teores de Isoflavonas (mg/100g) em Cultivares de Soja.

ISOFLAVONAS	EMBRAPA 58	EMBRAPA 59	BRS 133	BRS 242 RR	BRS 243 RR	BRS 244 RR	BRS 245 RR	Dms	Cv (%)
G-DAÍDZINA	10,80 D	43,15 A	19,95 C	23,74 C	34,50 B	40,48 A	39,96 A	4,193	4,95
G-GLICITINA	1,92 CD	2,42 BC	2,28 C	1,85 CD	2,96 AB	3,52 A	1,56 D	0,597	9,08
G-GENISTINA	15,75 D	33,26 B	21,47 C	31,06 B	29,16 B	40,96 A	45,44 A	4,815	5,57
M-DAÍDZINA	19,56 D	85,76 A	34,54 C	39,10 C	63,58 B	86,55 A	64,56 B	7,999	5,10
M-GLICITINA	9,97 B	0,00 C	11,66 A	0,00 C	0,00 C	0,00 C	0,00 C	0,952	11,05
M-GENISTINA	40,34 E	129,97 A	65,10 D	80,67 C	102,95 B	139,26 A	113,45 B	13,784	5,15
A-DAÍDZINA	0,00 E	13,55 A	0,00 E	5,16 D	8,13 C	12,63 AB	11,61 B	1,204	5,92
A-GLICITINA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
A-GENISTINA	0,00 B	28,57 A	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,231	2,03
DAIDZEÍNA	0,00 B	0,58 A	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,016	6,93
GLICITEÍNA	0,00 B	3,33 A	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,092	6,93
GENISTEÍNA	5,18 D	3,61 D	8,04 C	10,29 B	11,99 B	15,87 A	16,18 A	1,940	6,85
TOTAL	103,62 E	344,20 A	163,04 D	191,88 D	253,26 C	339,26 A	292,77 B	33,854	5,03

Médias seguidas das mesmas letras na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05\%$ )

## Referências

BENDER, A.E. Effects on nutritional balance: antinutrients. *In*: WATSON, D.H. **Natural toxicants in food: progress and prospects**. London: Ellis Horwood International Publishers, 1987. p.110-124.

BERHOW, M. A. **Modern analytical techniques for flavonoid determination**. *In*: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (Ed.). **Flavonoids in the living cell**. New York: Klusher Academic, 2002. p.61-76. (Adv. Exp. Méd. Biol. v. 505).

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; FAVONI, S.P.G.; KIKUCHI, A. Extraction time for isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.45, n.4, p.515-518, Dec. 2002.

DETERMINAÇÕES gerais. *In*: Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3.ed. São Paulo, 1985. v. 1, p.16-75.

FINARDI, F.F. Plantas transgênicas e a segurança alimentar. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 51. , 1999, Porto Alegre. 8p. Palestra apresentada no Simpósio Plantas Transgênicas: da Genética aos Alimentos.

HAMERSTRAND, G.E.; BLACK, L.T.; GLOVER, J.D. Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.51, n.1, p.42-45, 1981.

KAKADE, M.L.; RACKIS, J.J.; McGHEE, J.E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.51, p.376-382, May-june, 1974.

NODARI, R.O., GUERRA, M.P. Implicações dos transgênicos na sustentabilidade ambiental e agrícola. **História, Ciências, Saúde \_ Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.7, n.2, p.481-491, 2000.

SETCHELL, K.D. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. **American Journal Clinical of Nutrition**, Bethesda, v.134, n.6, p.1333S-1343S, 1998. Supplement.

# Serviço de Referência da Biblioteca da Embrapa Soja

---

BETETTO, M.J.R.<sup>1</sup>; LIMA, A.B.A.DE<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL; <sup>2</sup>Embrapa Soja.

O acervo da Biblioteca da Embrapa Soja abrange a produção científica de seus pesquisadores e outras publicações adquiridas pela Unidade. A biblioteca é especializada em agricultura e ciências afins, tendo como finalidade contribuir para o desenvolvimento da pesquisa agrônômica.

Para atingir esse objetivo, a biblioteca dispõe de vários serviços, entre eles o de referência.

“A expressão SERVIÇO DE REFERÊNCIA, foi tomada diretamente do inglês “REFERENCE WORK”. Tem como raiz o verbo referir, do latim REFERRE, que significa: indicar, informar.” (BARBOSA, E. et al., p.).

Segundo GROGAN (1995), o serviço de referência não requer apenas técnicas, mas principalmente paciência e habilidades para lidar com os usuários. Neste sentido afirma:

“O trabalho de referência [...] é muito mais que uma técnica especializada ou uma habilidade profissional. Trata-se de uma atividade essencialmente humana, que atende a uma das necessidades mais profundamente arraigadas da espécie, que é o anseio de conhecer e compreender.” (p.22)

O setor de referência da biblioteca da Embrapa Soja, assim como em outras bibliotecas, está localizado em ambiente preparado para receber e permitir um contato imediato com seus usuários, sendo este um setor da biblioteca em que a demanda de pesquisa bibliográfica e a consulta ocorrem com mais frequência.

O foco deste trabalho baseia-se no setor de referência da biblioteca da Embrapa Soja, que oferece para seus usuários vários serviços. Entre os mais utilizados estão a consulta bibliográfica e o empréstimo interno e externo.

Os objetivos desses serviços são facilitar e agilizar a localização e acesso às informações que não constam no acervo da biblioteca. Sendo assim, torna-se necessário relatar como ocorrem os procedimentos desses serviços solicitados pelos usuários da biblioteca.

A comutação bibliográfica permite a obtenção de cópias de artigos técnico-científicos, teses e folhetos não existentes na biblioteca da Embrapa Soja em um tempo relativamente curto. O serviço de comutação bibliográfica é imprescindível em qualquer Unidade de informação/biblioteca especializada. Isto porque nenhuma dessas unidades de informação, por mais diversificado que seja seu acervo, consegue deter toda a produção científica.

O usuário interessado em utilizar esse serviço poderá fazer sua solicitação preenchendo um formulário disponível no site da Intranet da Embrapa Soja ou entregando o seu pedido no setor de referência. Inicia-se a pesquisa primeiramente no acervo da biblioteca. Caso não seja localizado no acervo bibliográfico da Unidade, inicia-se uma pesquisa na Base de Dados da Pesquisa Agropecuária - BDPA. Essa base reúne os acervos bibliográficos das diversas bibliotecas da Embrapa.

Localizado o material bibliográfico solicitado pelo usuário, é feita a solicitação à biblioteca mais próxima utilizando os serviços de um sistema que permite a obtenção de cópias de documentos técnico-científicos disponíveis nos acervos das principais bibliotecas brasileiras, o COMUT, que é um sistema sob a responsabilidade do Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia – IBICT.

Caso o material não seja localizado na BDPA, é feita a consulta ao Portal de Periódicos da Capes, que oferece acesso a títulos nacionais e internacionais. Com volumes retroativos desde o ano de 1995/1996, a maioria dos títulos de periódicos encontra-se na íntegra e foi disponibilizada por diversos editores-fornecedores. Há também diversas bases de dados com resumos de documentos em todas as áreas do conhecimento.

Não localizando o documento no Portal de Periódicos da Capes, procede-se à pesquisa no Catálogo Coletivo Nacional - CCN, coordenado

pelo IBICT. Após utilizar todas as bases nacionais, se mesmo assim não for localizado o documento desejado, a solicitação poderá ser feita junto à *British Library*, que possibilita acesso à maior fonte mundial de informações publicadas em todo campo do conhecimento humano. Considerando o auto custo desse serviço para a Empresa, esse procedimento é utilizado somente quando o documento não for localizado nas bibliotecas do Brasil.

Para agilizar o atendimento do serviço de comutação bibliográfica, a biblioteca utiliza *software* de comunicação para a transmissão e recebimento de cópias de documentos pela Internet.

Um levantamento realizado no período de janeiro a agosto de 2007 demonstrou que o serviço de comutação bibliográfica atendeu da seguinte forma os usuários da biblioteca da Embrapa Soja: 112 pedidos utilizando as bases BDPA, CCN e outras bases para a recuperação do documento, e 6 pedidos utilizando a *British Library*.

O setor de referência também oferece a seus usuários o serviço de empréstimo, que permite a utilização do acervo documental da biblioteca fora do ambiente físico, por um período de tempo determinado. A biblioteca da Embrapa Soja disponibiliza três tipos de empréstimos: empréstimo domiciliar realizado na própria Unidade; empréstimo especial realizado na própria Unidade, permitindo ao empregado da Empresa a utilização de documentos do acervo da biblioteca por até seis meses; empréstimo entre bibliotecas, permitindo ao usuário utilizar o acervo de outras bibliotecas.

Constam nos registros da biblioteca que no período de janeiro a agosto de 2007, foram realizados 961 empréstimos domiciliares e especiais e 23 empréstimos entre bibliotecas.

A partir do exposto, compreende-se que o setor de referência da biblioteca da Embrapa Soja disponibiliza serviços a seus usuários com a finalidade de suprir suas necessidades de informação, contribuindo com o desenvolvimento da pesquisa agropecuária.

## Referências

BARBOSA, E.; SOUZA, F.; BELO, G.; SOARES, M.; PARISI, N. **Processo evolutivo do serviço de referência**. Disponível em: < <http://recantodasletras.uol.com.br/artigos/45998> > . Acesso em: 03 out. 2007.

GROGAN, D. **A prática do serviço de referência**. Brasília: Briquet de Lemos, 1995. 196 p.

# **Rendimento de Grãos de Cultivares de Soja Convencional e Transgênica em Resposta à Disponibilidade Hídrica**

---

BERTONCINI, J. D<sup>1</sup>; FELSSNER, G. C. L<sup>1</sup>; CUSTÓDIO, A. M<sup>1</sup>; NASCIMENTO JR, L<sup>1</sup>; VICTOR, R<sup>3</sup>; SALINET, L.H.<sup>4</sup>; NEUMAIER, N. <sup>2</sup>; NEPOMUCENO, A.L. <sup>2</sup>; FARIAS, J.R.B.<sup>21</sup>Bolsista da Graduação da Embrapa; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Soja; <sup>3</sup>Bolsista CNPq/PIBIQ; <sup>4</sup>Mestranda ESALQ.

A soja teve sua origem no leste asiático, tendo sido utilizada pela primeira vez como fonte de alimento humano na China, há mais de 5 mil anos e é considerada um dos cinco grãos sagrados ao lado do trigo, arroz, cevada e milheto.

Foi introduzida no resto do mundo por volta do séc. XIX, chegando ao Brasil nesse mesmo período. Mas só a partir da década de 60 passou a ser produzida em maior escala no país como uma alternativa ao trigo para o cultivo de verão.

Na década de 70 o preço da soja teve um aumento considerável, atraindo mais produtores para o seu cultivo e, assim, o Brasil passou a investir mais para produzir mais e, principalmente, adaptando a exploração da cultura ao clima tropical.

Com a tropicalização da soja, o Brasil passou a explorá-la soja em zonas tropicais, aumentando com isso sua produção e ajudando o país. Mesmo com a queda dos preços do produto, o Brasil é atualmente um dos líderes mundiais na produção, ao lado de EUA, Argentina, China, Índia e Paraguai.

Recentemente, surgiu uma nova tecnologia: soja transgênica, que vem da necessidade de aumentar a produção e diminuir os gastos. Há muito tempo o homem vem manipulando as plantas para atingir um aperfeiçoamento genético. A soja transgênica resistente ao glifosato (RR) tem

inserido na sua configuração genética o gene de uma bactéria do solo, a *Agrobacterium*, que confere resistência ao herbicida glifosato. Essa soja resistente ao herbicida foi usada pela primeira vez nos EUA na safra de 1996, e logo em seguida pela Argentina. No Brasil, seu cultivo comercial foi liberado recentemente. No entanto, com frequência tem sido questionada sua maior sensibilidade a períodos de déficit hídrico.

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o comportamento de cultivares de soja RR, com a aplicação ou não de glifosato, frente a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

O experimento foi conduzido no campo experimental da Embrapa Soja, situado no município de Londrina próximo, ao Distrito de Warta, durante a safra 2006/2007, envolvendo quatro cultivares de soja (duas convencionais e duas transgênicas), submetidas a duas condições de disponibilidade hídrica do solo. As duas cultivares transgênicas foram ainda submetidas ou não à aplicação do herbicida glifosato, resultando, então, em 12 tratamentos avaliados.

O experimento foi conduzido com delineamento experimental de parcelas subdivididas, ficando o fator disponibilidade hídrica na parcela e as cultivares, com e sem glifosato, nas subparcelas, com quatro repetições. Foram avaliados dois níveis de disponibilidade hídrica no solo: condições ótimas de umidade no solo (irrigada) e; condições normais de campo (não-irrigada). As cultivares de soja avaliadas foram: BRS-133, BRS-134, BRS-245 RR e BRS-247 RR.

Cada subparcela foi formada por oito linhas, com 5 m de comprimento e 0,5 m entre uma e outra linha, resultando numa área de 20 m<sup>2</sup> por subparcela. Cada parcela foi formada pelo conjunto de seis subparcelas.

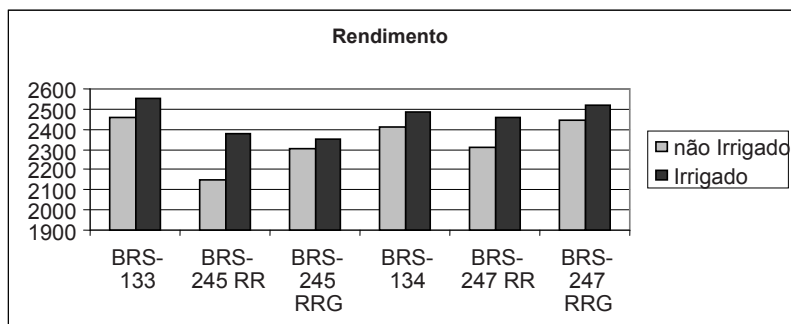
A disponibilidade hídrica do solo foi monitorada por conjuntos de tensiômetros de mercúrio, instalados à 15 cm e 30 cm de profundidade em diferentes blocos. Os tensiômetros medem a força (tensão) com que a água é retida pelo solo, a qual afeta diretamente a absorção de água pelas plantas. A irrigação ocorria sempre que a altura da coluna de mercúrio do tensiômetro de 30 cm de profundidade atingisse 20 cm.



A irrigação foi feita nos dias 16 e 17 de fevereiro; 8 e 9 de março. Nas duas primeiras irrigações foi aplicada uma lâmina média de água de 100 litros por subparcela (cerca de 5 mm), e nas duas últimas cerca de 200 litros por subparcela (aproximadamente 10 mm).

A semeadura foi realizada em 3 de dezembro de 2006 e a colheita foi em 9 de abril de 2007. As avaliações fisiológicas (condutância estomática, fotossíntese líquida, transpiração e concentração interna de gás carbônico), de temperatura foliar e radiação fotossinteticamente ativa foram feitas utilizando-se o analisador IRGA LI-6400, em folhas completamente desenvolvidas situadas no terço superior das plantas. Para as avaliações agrônômicas foram coletadas 5 plantas de cada parcela em cinco datas diferentes, nas quais foram avaliados parâmetros de crescimento, fenologia e biomassa. O rendimento de grãos foi obtido em avaliação final das parcelas. Posteriormente, todos os resultados serão submetidos à análise estatística pertinente.

Na safra 2006/2007 a distribuição e o volume da precipitação pluviométrica foram adequados para atender às necessidades da cultura da soja, não se verificando, por essa razão, diferenças significativas entre as parcelas irrigadas e não-irrigadas. Apesar disto, em todas as cultivares foram verificadas pequenas diferenças entre os rendimentos de grãos obtidos ao se comparar os valores nas duas condições de disponibilidade hídrica, sendo os rendimentos um pouco maiores na condição irrigada (Fig. 1). Não foram observadas, também, diferenças significativas do rendimento de grãos entre BRS-134 e sua isolínea transgênica (BRS-247), com e sem aplicação de glifosato. Já quando se comparou a BRS-133 à sua isolínea transgênica (BRS-245), as diferenças foram maiores, observando-se os menores rendimentos na transgênica, independente da aplicação de glifosato. O rendimento da transgênica sem glifosato parece ter sido mais afetado pela falta de água (condição não irrigada), contrariando informações de que, provavelmente, a aplicação de glifosato aumentaria a sensibilidade das plantas à menor disponibilidade hídrica. Este trabalho está em andamento e outros estudos ainda são necessários para a melhor compreensão das respostas de plantas transgênicas à disponibilidade hídrica no solo.



**Fig. 1:** Rendimento de grãos de soja, obtidos por diferentes cultivares convencionais (BRS-133 e BRS-134) e transgências sem (BRS-245RR e BRS-247RR) ou com aplicação de glifosato (BRS-245RRG e BRS-247RRG), sob distintas condições de disponibilidade hídrica.

## Referências

EMBRAPA SOJA. Soja Transgênica. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <[http://www.cnpso.embrapa.br/box.php?op\\_page=114&cod\\_pai=27](http://www.cnpso.embrapa.br/box.php?op_page=114&cod_pai=27)>. Acesso dia 31/jul/2007

CASAGRANDE, Elaine Cristina; FARIAS, José Renato Bouças; NEUMAIER, Norman; OYA, Tetsuji; PEDROSO, Júlio; MARTINS, Polyana Kelly; BRETON, Michèle Claire; NEPOMUCENO, Alexandre Lima. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. Rev. Bras. Fisiol. Veg., Lavras, v. 13, n. 2, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-31312001000200006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-31312001000200006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 01 de Agosto de 2007.

MONQUERO, Patrícia Andréa. Resistant transgenic plants to the herbicide: situation and perspectives. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0006-87052005000400002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052005000400002&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 17 Aug 2007.

# **Análise Comparativa de Métodos de Extração de Nutrientes de Tecidos Vegetais**

---

SILVA, E.R.DA<sup>1</sup>; OLIVEIRA, F.A.DE<sup>2</sup>; OLIVEIRA NETO, W.DE<sup>2</sup>; ORTIZ, F.R.<sup>2</sup>; CASTRO, C.DE<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, CCE/Depto. Química, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina-PR, [ers@cnpso.embrapa.br](mailto:ers@cnpso.embrapa.br); <sup>2</sup>Embrapa Soja.

A análise química de tecidos vegetais é uma técnica utilizada para a avaliação do estado nutricional das plantas (Tedesco et al., 1995) e também para a geração de informações complementares à análise do solo para avaliação da fertilidade. Por essa técnica, são determinados os teores totais de nutrientes nos tecidos vegetais, que são mineralizados e extraídos durante a digestão completa da matéria orgânica. Os métodos clássicos para a extração de nutrientes do tecido vegetal são a digestão seca, a digestão úmida em sistema aberto e a digestão úmida em sistema fechado em forno de microondas (Miyazawa et al., 1999). Dentre esses, a digestão úmida em sistema aberto é considerado o método-padrão para avaliar os nutrientes fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), cobre (Cu), ferro (Fé), manganês (Mn) e zinco (Zn), enquanto a digestão seca é o método-padrão para a determinação de boro (B) (Malavolta et al. 1997).

O objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente os resultados analíticos da determinação de macro e micronutrientes, a partir dos métodos de extração de nutrientes, digestão seca (DS), digestão úmida em sistema aberto (DUNP) e digestão úmida em sistema fechado em forno de microondas (DUMW), de folhas de girassol, milho e soja, de grãos de girassol, soja e trigo.

O experimento foi delineado em esquema fatorial 6 x 3 (tecido vegetal x método de extração), com 10 repetições e delineamento em blocos casualizados para o procedimento de determinação analítica. Os materiais foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C e moídos em moinho

tipo Wiley para homogeneização. Cada amostra foi constituída de 500 mg de cada material. Os métodos de digestão avaliados foram descritos por Miyazawa et al. (1999). A digestão seca foi realizada em mufla elétrica, em presença de ácido clorídrico, com aquecimento gradual da temperatura até 550 °C e manutenção dessa temperatura por 3 h. A digestão úmida em sistema aberto foi realizada em solução de ácido nítrico + ácido perclórico (3:1) e controle de temperatura de aquecimento até 200 °C em bloco digestor, por 4 horas. A digestão úmida em sistema fechado em forno de microondas utilizou ácido nítrico e potência crescente de 300 W até 900 W, variando-se o tempo total de digestão de 5 minutos nas amostras de folhas, para 17 minutos nas amostras de grãos.

A partir da digestão dos tecidos vegetais e diluição dos extratos, as amostras foram ordenadas por blocos e casualizadas para a determinação analítica dos nutrientes P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn, utilizando-se a espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente - ICP OES (Miyazawa et al., 1999). Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando-se a análise da variância, seguida do teste de comparação de médias Tukey a 5 % de probabilidade.

Os resultados, tanto da análise de macronutrientes (Tabela 1) quanto de micronutrientes (Tabela 2) apresentaram interações significativas entre os métodos de extração e cada material analisado. O método de digestão seca resultou em teores menores de P, K, Ca, Mg, S, além de Fe, Mn e Zn, possivelmente pela ocorrência de perdas por volatilização (Miyazawa et al, 1999). Com exceção do P, do Ca e do Mg, as perdas de nutrientes verificadas no método de digestão seca foram elevadas, principalmente para K e S, que variaram de 30 % a 50 %. Para o micronutriente B, no entanto, foi evidente a contaminação identificada no método de digestão úmida em sistema aberto, proveniente do tubo de digestão constituído de borossilicato.

Os resultados analíticos das determinações em extratos de digestão úmida em sistema fechado em forno de microondas apresentaram menor variação que a digestão seca em relação à digestão úmida em sistema aberto (Tabelas 1 e 2), contudo também apresentaram valores sistematicamente menores.

**Tabela 1** . Análises químicas de macronutrientes em tecidos vegetais em função do método de extração das amostras

Material Vegetal	Método	P	K	Ca	Mg	S
		-----g kg <sup>-1</sup> -----				
Folha girassol	DUNP	2,4 a <sup>1</sup>	54,5 a	19,1 a	4,4 a	4,0 a
Folha girassol	DUMW	2,5 a	46,2 b	18,7 a	3,4 c	3,5 b
Folha girassol	DS	2,0 b	34,4 c	16,1 b	3,9 b	2,2 c
Folha milho	DUNP	2,5 a	41,1 a	3,7 a	1,9 a	2,7 a
Folha milho	DUMW	2,5 a	32,9 b	3,2 ab	1,5 b	2,3 b
Folha milho	DS	1,9 b	24,6 c	2,5 b	1,3 b	1,4 c
Folha soja	DUNP	3,5 a	24,6 a	10,7 a	4,5 a	3,1 a
Folha soja	DUMW	3,2 a	22,9 a	9,9 a	4,2 b	2,6 b
Folha soja	DS	2,8 b	13,2 b	8,9 b	3,8 c	1,5 c
Grão girassol	DUNP	3,5 a	7,4 a	2,0 ns	2,3 a	2,0 a
Grão girassol	DUMW	3,0 b	6,5 ab	1,9 ns	2,1 ab	1,7 b
Grão girassol	DS	3,2 ab	4,7 b	1,9 ns	1,9 b	0,8 c
Grão soja	DUNP	5,3 a	19,0 a	1,8 ns	2,8 a	2,6 a
Grão soja	DUMW	4,5 b	16,6 a	1,7 ns	2,4 b	2,1 b
Grão soja	DS	4,1 c	12,4 b	2,1 ns	2,0 c	1,1 c
Grão trigo	DUNP	2,7 a	3,9 ns	0,5 ns	1,5 a	1,8 a
Grão trigo	DUMW	2,7 a	4,8 ns	0,7 ns	1,5 a	1,7 a
Grão trigo	DS	2,3 b	3,0 ns	0,7 ns	1,2 b	1,1 b

<sup>1</sup> Letras iguais, dentro de cada material, não diferem a 5 % de probabilidade pelo teste Tukey.

A análise de correlação identificou modelos significativos para ajuste dos dados com coeficientes de determinação elevados, possibilitando a estimativa dos nutrientes independente do método de extração (Tabela 3).

O método de extração de nutrientes de tecidos vegetais interferiu significativamente na determinação analítica dos nutrientes em tecidos vegetais. A utilização de métodos de extração de nutrientes por digestão seca ou digestão úmida em sistema fechado requer a correção dos valores determinados para cada nutriente por modelos de correlação específicos.

Tabela 2 . Análises químicas de micronutrientes em tecidos vegetais em função do método de extração das amostras

Material Vegetal	Método	B	Cu	Fe	Mn	Zn
		g kg <sup>-1</sup>				
Folha girassol	DUNP	47 a <sup>1</sup>	35 c	274 c	133 b	42 b
Folha girassol	DUMW	17 c	38 b	435 a	187 a	46 ab
Folha girassol	DS	21 b	43 a	363 b	122 b	48 a
Folha milho	DUNP	31 a	10 a	304 a	135 a	45 a
Folha milho	DUMW	3 b	8 a	160 b	139 a	32 b
Folha milho	DS	2 b	6 b	131 b	82 b	32 b
Folha soja	DUNP	73 a	10 b	180 ns	108 a	42 a
Folha soja	DUMW	44 b	9 b	173 ns	109 a	40 a
Folha soja	DS	40 c	12 a	176 ns	88 b	36 b
Grão girassol	DUNP	39 a	22 a	77 ns	22 ns	60 a
Grão girassol	DUMW	8 b	23 a	67 ns	22 ns	55 a
Grão girassol	DS	5 c	15 b	56 ns	18 ns	47 b
Grão soja	DUNP	44 a	4 ns	113 ns	30 ns	28 a
Grão soja	DUMW	19 b	4 ns	117 ns	27 ns	25 ab
Grão soja	DS	13 c	5 ns	79 ns	20 ns	21 b
Grão trigo	DUNP	31 a	6 ns	62 ns	69 a	67 a
Grão trigo	DUMW	3 b	7 ns	73 ns	71 a	57 b
Grão trigo	DS	1 b	6 ns	47 ns	57 b	51 c

1 Letras iguais, dentro de cada material, não diferem a 5 % de probabilidade pelo teste Tukey.

Tabela 3. Correlação entre os métodos de extração de amostras de tecido vegetal, para os resultados analíticos de macronutrientes e micronutrientes.

Nutriente	Método	DUMW		DS	
P	DUNP	$y = 1,175x - 0,302 \text{ R}^2 = 0,75^*$		$y = 1,123x + 0,260 \text{ R}^2 = 0,81^*$	
K	DUNP	$y = 1,205x - 1,031 \text{ R}^2 = 0,97^*$		$y = 1,570x + 0,923 \text{ R}^2 = 0,94^*$	
Ca	DUNP	$y = 1,014x + 0,195 \text{ R}^2 = 0,98^*$		$y = 1,171x - 0,005 \text{ R}^2 = 0,96^*$	
Mg	DUNP	$y = 1,113x + 0,093 \text{ R}^2 = 0,87^*$		$y = 0,991x + 0,575 \text{ R}^2 = 0,90^*$	
S	DUNP	$y = 1,070x + 0,226 \text{ R}^2 = 0,81^*$		$y = 1,491x + 0,687 \text{ R}^2 = 0,75^*$	
B	DUNP	$y = 1,000x + 28,76 \text{ R}^2 = 0,93^*$		$y = 0,992x + 31,01 \text{ R}^2 = 0,89^*$	
Cu	DUNP	$y = 0,893x + 1,219 \text{ R}^2 = 0,97^*$		$y = 0,751x + 3,548 \text{ R}^2 = 0,87^*$	
Fe	DUNP	$y = 0,998x + 0,543 \text{ R}^2 = 0,86^*$		$y = 0,780x + 35,755 \text{ R}^2 = 0,81^*$	
Mn	DUNP	$y = -0,0037x^2 + 1,495 + 9,97 \text{ R}^2 = 0,95^*$		$y = -0,008x^2 + 2,26x - 16,1 \text{ R}^2 = 0,88^*$	
Zn	DUNP	$y = 0,889x + 9,793 \text{ R}^2 = 0,75^*$		$y = 0,978x + 10,56 \text{ R}^2 = 0,70^*$	

<sup>1</sup> Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t.

## Referências

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A; MURAOKA, T.; CARMO, C.A.F. de S. do; MELLO, W. J. de. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F.C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia / Rio de Janeiro: Embrapa Solos / Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 1999. p.171-223.

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p. (UFRGS. Boletim Técnico; 5).

# **Auxílio no Desenvolvimento de Projetos para Melhoria do Relacionamento da Embrapa Soja com seus Públicos Interno e Externo**

---

FIGUEIREDO, H.V.<sup>1</sup>, GALERANI, G.S.M.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, Rodovia Celso Garcia Cid PR 45 Km 380 Cx. Postal 6001 CEP 86051-990 - Londrina - PR, <sup>2</sup>Embrapa Soja

Gerenciar os processos de relacionamento entre as organizações e seus públicos é função das relações públicas, que usam estratégias e meios comunicacionais como instrumentos no seu exercício profissional. Baseado no pensamento de Kunsch (2003, p.105), entende-se que uma organização só terá condições de atingir os seus diferentes públicos com o uso de diversos meios de comunicação massiva e dirigida, priorizando a necessidade e o alcance para cada público específico. É importante que não haja apenas a mediação e a passagem de informações, mas também a comunhão de idéias. Nesse contexto, a Embrapa Soja procura desenvolver técnicas de comunicação junto a dois segmentos distintos de público: o interno e o externo.

Como público interno entende-se todo agrupamento espontâneo que esteja ou não no mesmo espaço físico, originário de pessoas ou grupos ligados à empresa por relações funcionais (Fortes, 2003, p.72). Empregados, parceiros e estagiários formam o público interno da Embrapa Soja.

O público externo é definido por Fortes (2003, p.77) como “agregado perfeitamente identificável proveniente dos grupos que têm expectativas em uma instituição, com o qual é estabelecida uma rede de relacionamentos dependentes dos interesses mais ou menos prementes”. Na Embrapa Soja, o público externo é composto por profissionais da assis-



tência técnica, governos estadual e federal, empresas e profissionais do ramo agropecuário, universidades e demais instituições de ensino, comunidade em geral, produtores, entre outros.

Na Embrapa Soja, a Área de Comunicação Empresarial é a responsável por planejar e executar as diversas ações específicas entre a empresa e seus públicos, de forma a construir um relacionamento positivo e uma comunicação estratégica. O objetivo do trabalho de estágio em Relações Públicas na Unidade é contribuir no desenvolvimento de ações que primem por esse bom relacionamento, usando as estratégias da profissão, com esses dois públicos essenciais. A seguir, relatam-se algumas atividades desenvolvidas junto ao público externo e interno da Unidade.

As atividades voltadas para o público externo seguem o Padrão de Qualidade do Atendimento definido pelo Decreto nº 3.507, no qual todos os órgãos e entidades da Administração Pública Federal direta, indireta e fundacional, que atendem diretamente aos cidadãos, devem ter como base o bom atendimento telefônico, pessoal, por cartas e e-mails, conforme a necessidade e acessibilidade da pessoa a ser atendida. O Padrão de Qualidade do Atendimento engloba as normas a serem seguidas para que não falte no atendimento a devida assistência e informação.

Em 2006 foi implantado, para a maior segurança dentro da Unidade, um sistema para cadastramento dos visitantes. Além do uso de crachá especial e do registro eletrônico que já existiam, foi desenvolvida uma ficha de papel, nos moldes da eletrônica (contendo dados pessoais, quem será visitado, horário de entrada e de saída, entre outros) a ser levada pelo cliente ao empregado visitado que deve assiná-la comprovando a visita. Essa ficha deve ser entregue na recepção, no momento da saída do visitante.

Também focado no público externo, existe o Sistema de Cadastro de Clientes da Embrapa Soja, que contém os dados de empresas relacionadas com o ramo de pesquisa e agricultura ou ligadas de alguma forma à Unidade, formando um *mailing* para o envio de correspondências, informações sobre eventos e outros dados interessantes relacionados à

Unidade e às novidades agropecuárias. A revisão desses dados, junto com a inclusão de novos clientes, são ações desempenhadas durante todo o ano para que esse Sistema esteja sempre atualizado.

As atividades com o público interno têm como objetivo inserir melhorias no processo de comunicação interna, considerando o atendimento de demandas diagnosticadas por meio de pesquisas internas de opinião e de clima organizacional, periodicamente realizadas. A partir das demandas das últimas pesquisas elaborou-se um Plano de Comunicação Interna, que conta com 31 projetos e procura atender aos diferentes segmentos de público interno da Unidade: empregados, parceiros e estagiários. Nesses projetos são descritas as atividades que devem ser executadas e os veículos de comunicação usados para cada circunstância. Dois veículos de comunicação bastante utilizados para integrar e informar o público interno são o mural temático e o jornal eletrônico *Em Dia*.

O mural temático, instalado ao lado do restaurante, faz parte do projeto “ACE Comunica” e segue uma agenda anual abordando assuntos de interesse geral e a divulgação de eventos e atividades que acontecem na empresa. Sua periodicidade é semanal, sendo trocado todas as terças-feiras. Desde fevereiro de 2007 ocorreram 18 edições desse mural, com a seguinte divisão de temas:

- Seis foram festivos: 32º Aniversário da Embrapa, Dia das Mães, Comemoração do Meio Ambiente, Dia do Trabalho, Dia Mundial da Saúde e Dia dos Pais
- Nove foram informativos: Embrapa & Escola, Uso Correto do e-mail, Jornada Técnica, Jornada COEP, Informações sobre a Jornada Acadêmica, Inscrição da Jornada Acadêmica, Reunião Geral da Chefia (Julho), CAE Semana SIPAT
- Três podem ser classificados como temas variados de interesse geral: Elegância no comportamento, Expo Londrina e a Campanha do Almoço Tranquilo.

O jornal eletrônico interno *Em Dia* é elaborado pela equipe de jornalistas da Unidade, com colaboração da equipe de comunicação interna na sugestão de pautas e na disponibilização das edições para os empregados que não têm acesso a computadores. Essa disponibilização é feita por meio da exposição do *Em Dia* impresso em papel em oito murais de avisos pré-estabelecidos e estrategicamente posicionados. O jornal tem periodicidade diária e foi criado em 20 de março de 2002 e até o momento, 9 agosto de 2007, foram veiculadas 1303 edições.

As datas comemorativas também constituem importante fator de integração interna. A solenização dessas datas faz parte do Projeto Festejar e segue agenda anual que prevê a realização de atividades para marcar as seguintes comemorações: Dia Internacional da Mulher, aniversário da Embrapa Soja, Dia das Mães, Dia do Meio Ambiente, apoio à SIPAT, Dia dos Pais, Oficina Acadêmica e Jornada Acadêmica, aniversário do Bosque Verde Vivo, Semana Nacional de Ciência & Tecnologia e confraternização de fim de ano da Embrapa Soja. A participação nesses eventos é facultativa, mas de extrema importância para o cumprimento de sua finalidade junto aos colaboradores, parceiros e estagiários. Em 2007, foi dado apoio aos seguintes eventos comemorativos:

- Dia Das Mães: realizado em 10 de maio, contou com atividades especiais para as mães da Unidade, com o oferecimento de hidratação facial, alongamento, manicure e a distribuição de cartões.
- 32º Aniversário da Embrapa Soja: em 17 de abril foi realizada uma comemoração que contou com diversas homenagens (aos empregados com 10, 20 e 30 anos de carreira na Embrapa e também aos que se desligaram da Unidade no último ano), pronunciamentos da Chefia Geral da Embrapa Soja, do presidente da Associação dos Empregados da Embrapa – AEE, do Sindicato dos Trabalhadores – SINPAF e do representante de outra Unidade da Embrapa presente ao evento, o Serviço de NegóciosTecnológicos – SNT. Também, foi destaque no evento o lançamento de um vídeo sobre Monteiro Lobato – produzido e editado pela Área de Comunicação Empresarial, em homenagem ao pesquisador Léo Pires Ferreira, profundo conhecedor da vida e da obra do escritor.

- Dia do Meio Ambiente: em 5 de maio foi inaugurada a Alameda do Oiti, quando diversas árvores dessa espécie foram plantadas num espaço de ampla circulação na Unidade. A ACE também promoveu um mutirão no Bosque Verde Vivo, área de um hectare que contém árvores plantadas e mantidas por todos os empregados da Unidade.
- Dia dos Pais: em 10 de agosto foi programada, em parceria com a CIPA, uma apresentação de música popular com pesquisadores que também são músicos e instrumentistas. A chefe-geral da Unidade também cantou e tocou violão e, após o convite à platéia, vários outros empregados e estagiários subiram ao palco e se apresentaram tocando instrumentos. Ao final do evento, houve sorteio de brindes, incluindo diárias de hotéis em Londrina. Junto com a AEE, foi disponibilizado o serviço de engraxates para os pais que desejassem lustrar seus sapatos.

Outro projeto importante para empregados, parceiros e estagiários, é a Reunião Geral entre Chefia e Público Interno, que acontece quatro vezes por ano e tem como objetivo aproximar a Chefia dos diversos setores/áreas por meio da apresentação de informações e da discussão aberta de temas de interesse geral. A reunião tem ampla divulgação prévia, montagem participativa de pauta e é avaliada pelos participantes por meio de questionário breve. Cabe ao estagiário de relações públicas auxiliar em todas as etapas dos projetos descritos acima: desde o planejamento das atividades até sua execução, acompanhamento e avaliação.

A partir do exposto, compreende-se que o trabalho com os públicos interno e externo da Embrapa Soja envolve algumas ações já estabelecidas em manuais de relacionamento e planos de comunicação, mas abertas a novas idéias e ajustamentos no intuito de sempre melhorar o convívio entre empresa e públicos essenciais.

Público e Organização, que são instâncias distintas (KUNSCH, 2003), têm nas relações públicas seu grande alicerce para que ocorram relacionamentos harmoniosos e, caso haja conflitos, sejam administrados por meio de estratégias e ferramentas de comunicação. O aperfeiçoamento e o desenvolvimento eficaz

das ações de comunicação facilitam e estimulam relacionamentos mais sólidos e promovem credibilidade entre as partes envolvidas.

## Referências

FORTES, Waldyr Gutierrez **Relações Públicas** - Processo, funções, tecnologia e estratégias ,2.ed. rev. e ampl. – São Paulo: Summus, 2003.

KUNSCH, Margarida Maria Krohling. **Planejamento de relações públicas na comunicação integrada** – São Paulo: Summus, 2003.

# Caracterização das Respostas de Cultivares de Soja à Disponibilidade Hídrica

---

NASCIMENTO JÚNIOR, L.<sup>1</sup>; CUSTÓDIO, A. M.<sup>1</sup>; FELSSNER, G. C.<sup>1</sup>; BERTONCINI, J. D.<sup>1</sup>; VICTOR, R.<sup>3</sup>; SALINET, L.H.<sup>4</sup>; NEPOMUCENO, A.L.<sup>2</sup>; NEUMAIER, N.<sup>2</sup>; FARIAS, J.R.B.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Bolsista da Graduação da Embrapa; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Soja; <sup>3</sup>Bolsista CNPq/PIBIQ; <sup>4</sup>Mestranda ESALQ

A soja é uma leguminosa de extrema importância econômica (Confalone e Dujmovich, 1999). Nos últimos anos tem contribuído com um superávit considerável na balança comercial brasileira, dando significativa contribuição para o desenvolvimento do país, na geração de empregos e renda (Farias et al., 2001).

A soja pode ser cultivada sob condições ambientais muito variáveis e predominantemente sem irrigação (Confalone e Dujmovich, 1999). Sendo assim, está sujeita ao déficit hídrico que, dependendo da intensidade, pode prejudicar o desenvolvimento da planta (Muchow et al., 1993 apud Confalone e Dujmovich, 1999).

Nessa perspectiva, o clima, então, aparece como o principal fator responsável pelas oscilações anuais de produtividade (Camargo, 1984 apud, Casagrande, et al. 2001) e, conseqüentemente, por boas safras. Segundo Göpfert et al. (1993) apud Casagrande. et al. (2001), as secas aparecem como principal evento que produz perdas na produção agrícola. Este evento soma 71 % dos casos negativos, seguido por chuvas excessivas, granizo, geadas, pragas e doenças.

Atualmente, vários cientistas vêm realizando experiências com o objetivo de selecionar cultivares mais resistentes às condições climáticas adversas, sobretudo as ligadas à distribuição anual e irregular das chuvas. Tal pesquisa se torna relevante visto que a soja necessita da água

em todas as fases do seu crescimento e desenvolvimento e sua falta, ou não, pode determinar se a lavoura terá um bom rendimento ou uma quebra expressiva de produção.

Este trabalho teve pro objetivo avaliar as respostas apresentadas pelas cultivares de soja a diferentes níveis de disponibilidade hídrica no solo.

O estudo foi conduzido durante a safra 2006/2007, na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina - PR, envolvendo as cultivares BR-16, Embrapa 48, BRS-133, BRS-134, BRS-183, BRS-184, BRS-214, BRS-232, BRS-245 RR e BRS-247-RR. A semeadura ocorreu nos dias 04 e 05 de dezembro de 2006 e a colheita no período entre 22 de março e 4 de abril de 2007.

As cultivares de soja foram submetidas a diferentes níveis de disponibilidades hídricas, sendo o primeiro denominado Descoberto Irrigado. Nesse nível, a condição ótima de umidade foi monitorada por tensiômetros de mercúrio, instalados a 15 cm e 30 cm de profundidade e o solo irrigado sempre que apresentasse baixa disponibilidade hídrica. No segundo nível, Descoberto Não-Irrigado, o solo foi mantido em condições normais de umidade, apenas com a precipitação pluviométrica ocorrida normalmente. No último nível, denominado Abrigo, as plantas foram submetidas a severo déficit hídrico durante o período reprodutivo. Para tanto, foram utilizados abrigos automáticos que evitavam a precipitação pluviométrica, por 48 dias a partir do estádio R1 (17 de janeiro). Fora desse período, as cultivares foram submetidas a condições normais de umidade no campo.

Foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, com quatro blocos, ficando o fator disponibilidade hídrica nas parcelas e as cultivares nas subparcela. Fora dos abrigos, cada parcela foi formada por 8 linhas com 6 m de comprimento e com 0,5 m entrelinhas, totalizando uma área de 24 m<sup>2</sup>. Nos abrigos, cada parcela possuía 3 linhas, com 3 m de comprimento e 0,5 m entrelinhas, totalizando uma área de 4,5 m<sup>2</sup>. Tal dimensão foi necessária em função da área total

de cada abrigo (60 m<sup>2</sup>) e de cada abrigo constituir-se num bloco. Cada conjunto de dez cultivares, num mesmo nível de disponibilidade hídrica, constitui uma parcela. Ao todo foram 120 subparcelas, agrupadas em 12 parcelas e quatro repetições.

Foram feitas avaliações de rendimento de grãos, peso da matéria seca, teor relativo de água, altura de plantas e peso de grãos. Com o uso de um IRGA (LI-6200), foram avaliadas a taxa fotossintética, resistência estomática e taxa transpiratória. A análise dos dados ainda não foi concluída, estes devem ser submetidos à análise estatística.

Na Fig. 1, verifica-se menor rendimento de grãos na condição de menor disponibilidade hídrica (Abrigo). Como o regime de chuvas durante a safra 2006/07 foi suficiente para atender as necessidades da cultura, praticamente não se verificou diferenças entre os níveis irrigado e não irrigado. A ocorrência de déficit hídrico provoca o fechamento dos estômatos para reduzir a perda de água para a atmosfera. Como é através dos estômatos que a planta realiza as trocas gasosas, tal fechamento reduz a fotossíntese, prejudicando a produção de fotoassimilados. Com isso, há menor crescimento da parte aérea da planta e, conseqüentemente, menor translocação de nutrientes e fotoassimilados para os grãos. Muitas vezes, pode ocorrer aborto de flores e de frutos. Tudo isso provoca diminuição da produtividade.

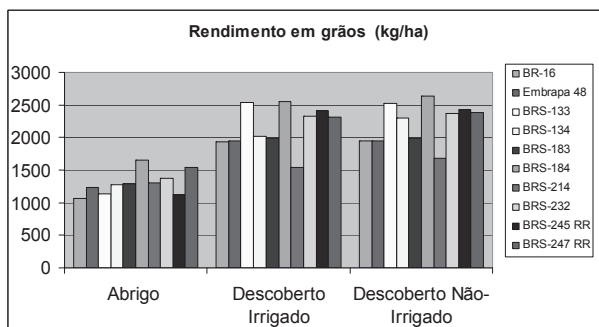
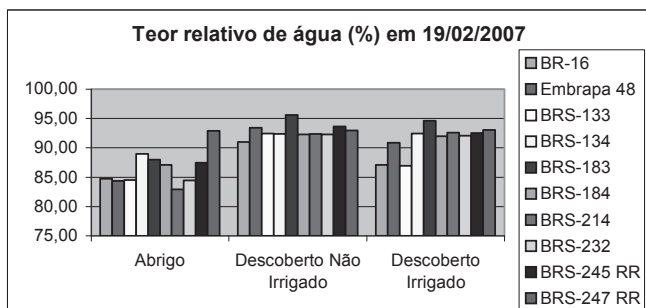


Fig. 1: Rendimento de grãos de dez cultivares de soja, submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

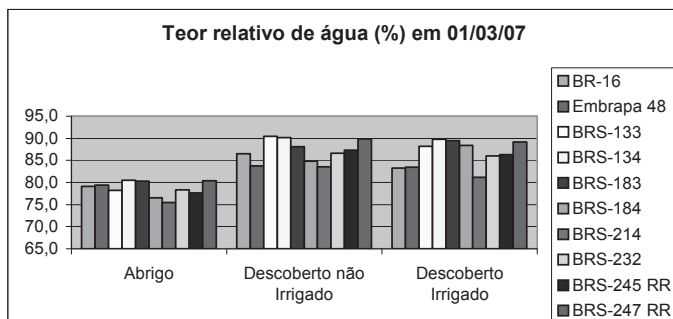


Vários trabalhos têm buscado identificar cultivares cada vez mais tolerantes ao déficit hídrico, mantendo-se produtivas mesmo na adversidade climática. No presente estudo, as que tiveram um resultado mais pronunciado foram a BRS-184 e a BRS-247RR que apresentaram maiores rendimentos quando submetidas à deficiência hídrica (Fig. 1).

O teor relativo de água (TRA) tem sido um parâmetro muito empregado para expressar a condição hídrica das plantas. Nas Fig.s 2 e 3, pode-se verificar as diferentes condições hídricas das plantas quando submetidas a variação na disponibilidade de água. Na Fig. 3, observa-se maior redução dos valores de TRA dentro dos abrigos, pois ficaram sem água proveniente da precipitação pluviométrica por mais tempo atingindo



**Fig. 2.** Teores relativos de água, observados dia 19 de fevereiro de 2007, em dez cultivares de soja, submetidas a três condições de disponibilidade hídrica.



**Fig. 3.** Teores relativos de água, observados dia 01 de março de 2007, em dez cultivares de soja, submetidas a três condições de disponibilidade hídrica.

níveis mais severos de restrição hídrica. Da mesma forma que no rendimento de grãos, não foram verificadas grandes diferenças de rendimento entre os tratamentos descoberto não irrigado e descoberto irrigado, visto que durante a safra choveu bastante, o que propiciou uma disponibilidade hídrica semelhante nos dois tratamentos.

De um modo geral, parece haver diferenças nas respostas das cultivares aos diferentes níveis de disponibilidade hídrica. Porém, novos experimentos, com situações mais discrepantes e análises mais apuradas são necessários para maior certeza nas afirmações.

## Referências

CANFALONE, A.; DUJMOVICH, M.N. Influência do déficit hídrico sobre o desenvolvimento e rendimento da soja. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 7, n. 2, p. 183 – 187, 1999. Disponível em: <<http://www.sbagro.org.br/rbagro/pdfs/artigo258.pdf>>. Acesso dia: 30 de julho de 2007.

CASAGRANDE, E.C.; FARIAS, J.R.B.; NEUMAIER, N.; OYA, T.; PEDROSO, J.; MARTINS, P.K.; BRETON, M.C.; NEPOMUCENO, A.L. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 13, n. 2, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-31312001000200006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-31312001000200006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 01 de Agosto de 2007.

FARIAS, J.R.B.; ASSAD, E.D.; ALMEIDA, I.R.; EVANGELISTA, B. A.; LAZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A.L. Caracterização de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil. Disponível em: <<http://www.sbagro.org.br/rbagro/pdfs/artigo258.pdf>>. Acesso em: 30 de julho de 2007.

# **Caracterização das Respostas de Cultivares de Soja à Disponibilidade Hídrica**

---

NASCIMENTO JÚNIOR, L.<sup>1</sup>; CUSTÓDIO, A. M.<sup>1</sup>; FELSSNER, G. C.<sup>1</sup>; BERTONCINI, J. D.<sup>1</sup>; VICTOR, R.<sup>3</sup>; SALINET, L.H.<sup>4</sup>; NEPOMUCENO, A.L.<sup>2</sup>; NEUMAIER, N.<sup>2</sup>; FARIAS, J.R.B.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Bolsista da Graduação da Embrapa; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Soja; <sup>3</sup>Bolsista CNPq/PIBIQ; <sup>4</sup>Mestranda ESALQ

A soja é uma leguminosa de extrema importância econômica (Confalone e Dujmovich, 1999). Nos últimos anos tem contribuído com um superávit considerável na balança comercial brasileira, dando significativa contribuição para o desenvolvimento do país, na geração de empregos e renda (Farias et al., 2001).

A soja pode ser cultivada sob condições ambientais muito variáveis e predominantemente sem irrigação (Confalone e Dujmovich, 1999). Sendo assim, está sujeita ao déficit hídrico que, dependendo da intensidade, pode prejudicar o desenvolvimento da planta (Muchow et al., 1993 apud Confalone e Dujmovich, 1999).

Nessa perspectiva, o clima, então, aparece como o principal fator responsável pelas oscilações anuais de produtividade (Camargo, 1984 apud, Casagrande, et al. 2001) e, conseqüentemente, por boas safras. Segundo Göpfert et al. (1993) apud Casagrande. et al. (2001), as secas aparecem como principal evento que produz perdas na produção agrícola. Este evento soma 71 % dos casos negativos, seguido por chuvas excessivas, granizo, geadas, pragas e doenças.

Atualmente, vários cientistas vêm realizando experiências com o objetivo de selecionar cultivares mais resistentes às condições climáticas adversas, sobretudo as ligadas à distribuição anual e irregular das chu-

vas. Tal pesquisa se torna relevante visto que a soja necessita da água em todas as fases do seu crescimento e desenvolvimento e sua falta, ou não, pode determinar se a lavoura terá um bom rendimento ou uma quebra expressiva de produção.

Este trabalho teve pro objetivo avaliar as respostas apresentadas pelas cultivares de soja a diferentes níveis de disponibilidade hídrica no solo.

O estudo foi conduzido durante a safra 2006/2007, na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina - PR, envolvendo as cultivares BR-16, Embrapa 48, BRS-133, BRS-134, BRS-183, BRS-184, BRS-214, BRS-232, BRS-245 RR e BRS-247-RR. A semeadura ocorreu nos dias 04 e 05 de dezembro de 2006 e a colheita no período entre 22 de março e 4 de abril de 2007.

As cultivares de soja foram submetidas a diferentes níveis de disponibilidades hídricas, sendo o primeiro denominado Descoberto Irrigado. Nesse nível, a condição ótima de umidade foi monitorada por tensiômetros de mercúrio, instalados a 15 cm e 30 cm de profundidade e o solo irrigado sempre que apresentasse baixa disponibilidade hídrica. No segundo nível, Descoberto Não-Irrigado, o solo foi mantido em condições normais de umidade, apenas com a precipitação pluviométrica ocorrida normalmente. No último nível, denominado Abrigo, as plantas foram submetidas a severo déficit hídrico durante o período reprodutivo. Para tanto, foram utilizados abrigos automáticos que evitavam a precipitação pluviométrica, por 48 dias a partir do estádio R1 (17 de janeiro). Fora desse período, as cultivares foram submetidas a condições normais de umidade no campo.

Foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, com quatro blocos, ficando o fator disponibilidade hídrica nas parcelas e as cultivares nas subparcela. Fora dos abrigos, cada parcela foi formada por 8 linhas com 6 m de comprimento e com 0,5 m entrelinhas, totalizando uma área de 24 m<sup>2</sup>. Nos abrigos, cada parcela possuía 3 linhas, com 3 m de comprimento e 0,5 m entrelinhas, totalizando uma

área de 4,5 m<sup>2</sup>. Tal dimensão foi necessária em função da área total de cada abrigo (60 m<sup>2</sup>) e de cada abrigo constituir-se num bloco. Cada conjunto de dez cultivares, num mesmo nível de disponibilidade hídrica, constitui uma parcela. Ao todo foram 120 subparcelas, agrupadas em 12 parcelas e quatro repetições.

Foram feitas avaliações de rendimento de grãos, peso da matéria seca, teor relativo de água, altura de plantas e peso de grãos. Com o uso de um IRGA (LI-6200), foram avaliadas a taxa fotossintética, resistência estomática e taxa transpiratória. A análise dos dados ainda não foi concluída, estes devem ser submetidos à análise estatística.

Na Fig. 1, verifica-se menor rendimento de grãos na condição de menor disponibilidade hídrica (Abrigo). Como o regime de chuvas durante a safra 2006/07 foi suficiente para atender as necessidades da cultura, praticamente não se verificou diferenças entre os níveis irrigado e não irrigado. A ocorrência de déficit hídrico provoca o fechamento dos estômatos para reduzir a perda de água para a atmosfera. Como é através dos estômatos que a planta realiza as trocas gasosas, tal fechamento reduz a fotossíntese, prejudicando a produção de fotoassimilados. Com isso, há menor crescimento da parte aérea da planta e, conseqüentemente, menor translocação de nutrientes e fotoassimilados para os

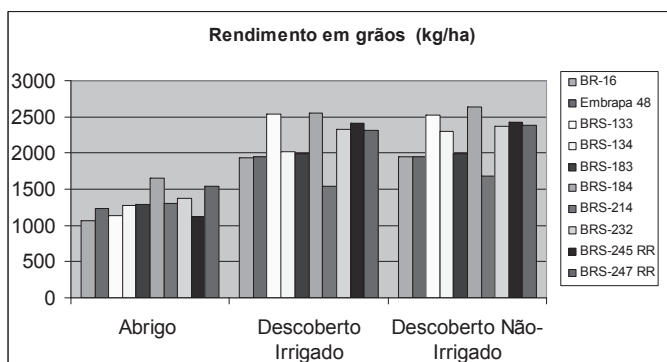
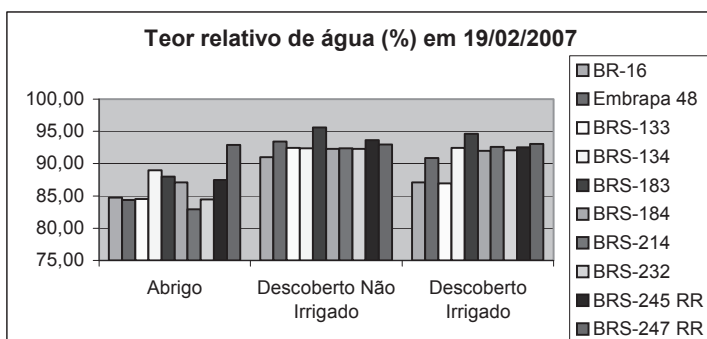


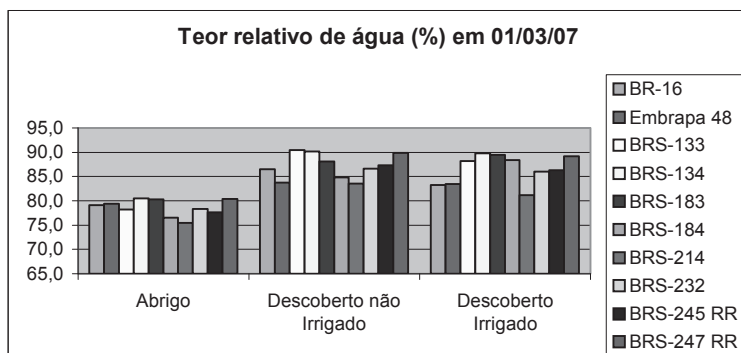
Fig. 1: Rendimento de grãos de dez cultivares de soja, submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

grãos. Muitas vezes, pode ocorrer aborto de flores e de frutos. Tudo isso provoca diminuição da produtividade.

Vários trabalhos têm buscado identificar cultivares cada vez mais tolerantes ao déficit hídrico, mantendo-se produtivas mesmo na adversidade climática. No presente estudo, as que tiveram um resultado mais pronunciado foram a BRS-184 e a BRS-247RR que apresentaram maiores rendimentos quando submetidas à deficiência hídrica (Fig. 1).



**Fig. 2.** Teores relativos de água, observados dia 19 de fevereiro de 2007, em dez cultivares de soja, submetidas a três condições de disponibilidade hídrica.



**Fig. 3.** Teores relativos de água, observados dia 01 de março de 2007, em dez cultivares de soja, submetidas a três condições de disponibilidade hídrica.

O teor relativo de água (TRA) tem sido um parâmetro muito empregado para expressar a condição hídrica das plantas. Nas Fig.s 2 e 3, pode-se verificar as diferentes condições hídricas das plantas quando submetidas a variação na disponibilidade de água. Na Fig. 3, observa-se maior redução dos valores de TRA dentro dos abrigos, pois ficaram sem água proveniente da precipitação pluviométrica por mais tempo atingindo níveis mais severos de restrição hídrica. Da mesma forma que no rendimento de grãos, não foram verificadas grandes diferenças de rendimento entre os tratamentos descoberto não irrigado e descoberto irrigado, visto que durante a safra choveu bastante, o que propiciou uma disponibilidade hídrica semelhante nos dois tratamentos.

De um modo geral, parece haver diferenças nas respostas das cultivares aos diferentes níveis de disponibilidade hídrica. Porém, novos experimentos, com situações mais discrepantes e análises mais apuradas são necessários para maior certeza nas afirmações.

## Referências

CANFALONE, A.; DUJMOVICH, M.N. Influência do déficit hídrico sobre o desenvolvimento e rendimento da soja. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 7, n. 2, p. 183 – 187, 1999. Disponível em: <<http://www.sbagro.org.br/rbagro/pdfs/artigo258.pdf>>. Acesso dia: 30 de julho de 2007.

CASAGRANDE, E.C.; FARIAS, J.R.B.; NEUMAIER, N.; OYA, T.; PEDROSO, J.; MARTINS, P.K.; BRETON, M.C.; NEPOMUCENO, A.L. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 13, n. 2, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-31312001000200006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-31312001000200006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 01 de Agosto de 2007.

FARIAS, J.R.B.; ASSAD, E.D.; ALMEIDA, I.R.; EVANGELISTA, B. A.; LAZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A.L. Caracterização

de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil.

Disponível em: <<http://www.sbagro.org.br/rbagro/pdfs/artigo258.pdf>> .

Acesso em: 30 de julho de 2007.



# **Riscos Climáticos à Cultura do Girassol: Aspectos Fitossanitários**

---

QUINELATO, A.L.<sup>1</sup>; CARDOSO, M.R.<sup>1</sup>; ALMEIDA, I.R.<sup>2</sup>; FARIAS, J.R.B.<sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina-UEL, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina-PR, alq@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>Embrapa Soja.

O potencial da cultura do girassol, como componente de sistemas de produção dos mais diversificados e rentáveis, vem gerando grande expectativa de expansão em diversas regiões do país, o que tem intensificado a demanda por informações técnico-científicas capazes de contribuir e viabilizar a implantação dessa cultura. No entanto, na agricultura de hoje, ampliar os rendimentos e reduzir custos e riscos de insucesso dependem cada vez mais do uso criterioso dos recursos. Nesse processo, o agricultor deve tomar decisões em função dos fatores de produção disponíveis e dos níveis de risco envolvendo sua atividade, visando a obtenção de uma maior rentabilidade. Diante desse contexto, definindo áreas menos sujeitas a riscos de insucessos devido à probabilidade de ocorrência de determinadas condições climáticas, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver metodologia para caracterizar o risco climático para ocorrência de importantes doenças na cultura do girassol.

Dentre todos os fatores envolvidos na produção agrícola, o clima apresenta-se como um dos únicos praticamente incontroláveis. Os efeitos da ocorrência de certas adversidades climáticas, como geadas e secas, podem, em alguns casos, ser total ou parcialmente amenizados, porém é inviável economicamente cultivar plantas não adaptadas a ele (CAMARGO et al., 1977). Em outros casos, as condições climáticas podem favorecer o desenvolvimento e a propagação de certos patógenos inviabilizando a exploração de uma dada cultura sob determinadas condições.

Na primeira etapa do trabalho foi montado um banco de dados climáticos, contendo valores diários de precipitação pluviométrica, temperatura do ar e evapotranspiração, observados por um período mínimo de 20 anos nas regiões em estudo, obtidos junto ao INMET, IAPAR e unidades da EMBRAPA.

De posse dos dados foram feitos todos os cálculos necessários a fim de estimar-se os índices de riscos para o cultivo de girassol por meio da geoestatística, distribuições de frequência e probabilidades e do uso de modelos de simulação. Esses modelos foram usados para estimar o desenvolvimento da cultura do girassol sob as diferentes condições de clima e de solo.

A análise está sendo feita com base no desenvolvimento e na propagação de certos patógenos relacionados às condições climáticas que são: *Alternaria helianthi* (condição ideal para o seu surgimento é temperatura superior a 25 °C), e *Sclerotinia sclerotiorum* (condição ideal para o seu surgimento é temperatura inferior a 20°C). Num primeiro momento foram definidas as áreas e épocas de semeadura com maior risco de ocorrência de *Sclerotinia*.

Tendo como suporte a base de dados contendo valores diários de temperatura do ar e da frequência dos eventos foi montado um gráfico com a distribuição de temperaturas inferiores a 20 °C, para análise das probabilidades de ocorrência de *Sclerotinia* na planta de girassol.

Foi também considerada a duração das fases fenológicas do girassol conforme descrição de Castiglioni et al.(1994).

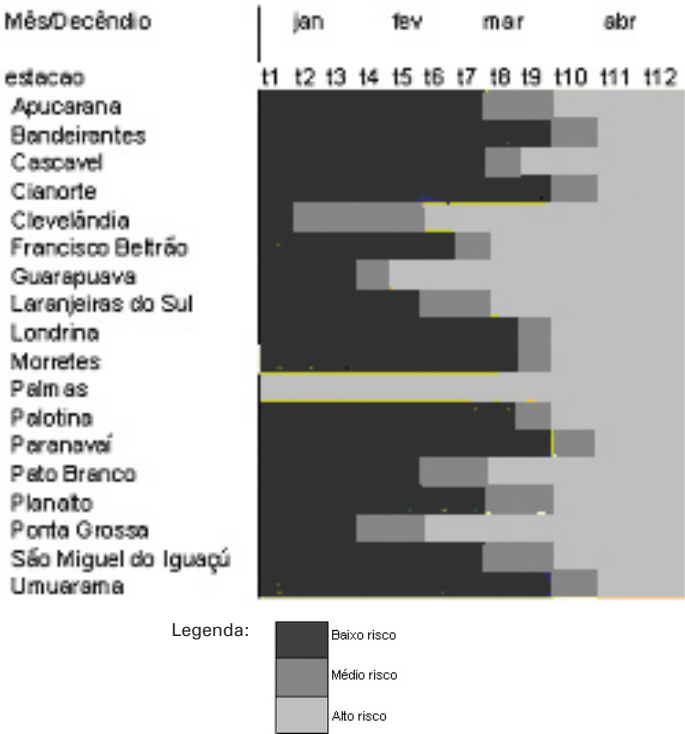
Posteriormente realizou-se a síntese dos gráficos analisados, (Tabela 1), representando todo o conjunto de dados em uma única planilha. Regiões e épocas com probabilidade inferiores a 20 % de ocorrência de temperaturas abaixo de 20 °C foram classificadas como de baixo risco e as com probabilidades acima de 50 % foram consideradas de alto risco.

Para a espacialização dos resultados foram empregados os índices de riscos climáticos obtidos, associados à localização geográfica da respectiva região, para posterior espacialização, utilizando-se um sistema de informações geográficas (IDRISI e SPRING descrito em ASSAD e SANO, 1993).

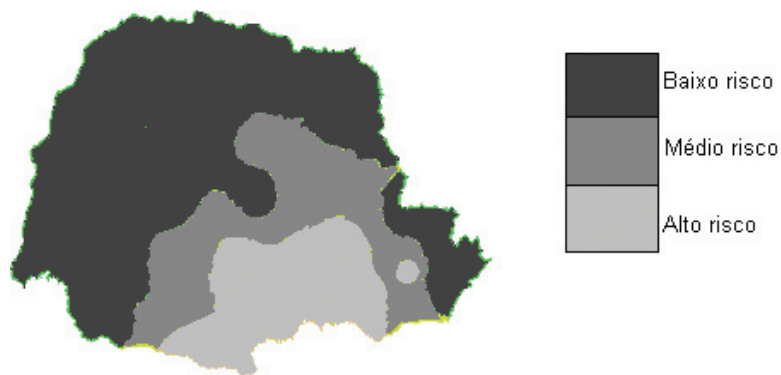
Convertidos os dados e feitas as transformações necessárias na espacialização dos valores foram confeccionados os mapas, nos quais foram definidas as áreas de maior ou menor risco climático para o girassol.

As principais regiões produtoras de girassol foram classificadas em três (3) grandes zonas de aptidão climática à cultura: a) zonas de baixo, médio e alto risco climático para a ocorrência e desenvolvimento da *Sclerotinia*, conforme exemplo na Fig. 1.

**Tabela 1.** Exemplo de planilha contendo a síntese dos gráficos analisados, com as respectivas classificações do risco climático para ocorrência de *Sclerotinia*, em função do decêndio de semeadura e do local, para diferentes regiões do Paraná.



**Fig. 1.** Espacialização dos resultados considerando o período de semeadura entre 21 e 28 de Fevereiro.



## Referências

- ASSAD, E.D.; SANO, E.E. **Sistema de informações geográficas: aplicações na agricultura.** Planaltina; EMBRAPA-CPAC. 1993. 247p.
- CAMARGO, A.P. de ; ALFONSI, R. R. ; PINTO, H.S. ; CHIARINI, J.V. Zoneamento da aptidão climática para culturas comerciais em áreas do cerrado. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO – BASES PARA UTILIZAÇÃO AGROPECUÁRIA, 4., 1977, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF, 1977. V. 1. p. 89-120.
- CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A.; CASTRO, C. de; SILVEIRA, J.M. **Fases de desenvolvimento da planta de girassol.** Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1994. 24p. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 58).
- CASTRO, C.; CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A.; LEITE, R.M.V.B.; KARAM, D.; MELLO, H.C.; GUEDES, L.C.A.; FARIAS, J.R.B. **A cultura do girassol.** Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1996, 38p. (EMBRAPA-CNPSO. Circular Técnica, 13).

# **As Ferramentas de Comunicação de Marketing na Transferência de Tecnologia da Embrapa Soja**

---

LUCIANA MARIA MACHADO PIRES<sup>1</sup>; SANDRA MARIA SANTOS CAMPANINI<sup>2</sup>; ARNOLD BARBOSA DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; LINEU ALBERTO DOMIT<sup>2</sup>; JOSÉ GRAÇAS MAIA DE ANDRADE<sup>2</sup>; VANDRE ALEX DA SILVA<sup>3</sup>. <sup>1</sup>aluna de Graduação de Marketing e Propaganda-Unopar, <sup>2</sup>Embrapa Soja, <sup>3</sup>Coordenador do Curso de Marketing e Propaganda-Unopar.

## **Introdução**

Com o surgimento de mercados extremamente competitivos, setores como o da agricultura estão investindo cada vez mais em tecnologias para estarem à frente do mercado.

De acordo com o IV Plano Diretor da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), a mesma tem como missão viabilizar soluções para o desenvolvimento sustentável do espaço rural, com foco no agronegócio, por meio da geração, adaptação e transferência de conhecimentos e tecnologias, em benefício dos diversos segmentos da sociedade brasileira.

A Transferência de Tecnologia (TT) viabiliza o processo de disponibilização dos resultados das pesquisas. Ferramentas como unidades demonstrativas, dias de campo, cursos de formação de agentes multiplicadores, entre outras, transferem ao público de interesse a tecnologia gerada, atendendo diversos setores produtivos brasileiros.

## Objetivo

Descrever as várias ferramentas de comunicação de marketing utilizadas pela TT para o desenvolvimento de suas atividades.

## Desenvolvimento

O conjunto de ferramentas de marketing que a empresa utiliza para alcançar seus objetivos no mercado-alvo é conhecido por composto de *marketing*. Essas ferramentas são classificadas em quatro grupos amplos denominado 4Ps: produto, preço, praça (ou ponto-de-venda) e promoção.

Como afirma Kotler (2000), o composto de marketing tem cinco formas essenciais de comunicação:

1. Propaganda: qualquer forma paga de apresentação e promoção não-pessoais de idéias, mercadorias ou serviços por um anunciante identificado;
2. Promoção de vendas: uma variedade de incentivos de curto prazo para encorajar a experimentação ou a compra de um produto ou serviço;
3. Relações Públicas e Publicidade: uma variedade de programas elaborados para promover a imagem de uma empresa ou de seus produtos;
4. Vendas pessoais: interação pessoal (cara a cara) com um ou mais compradores potenciais visando apresentar produtos ou serviços, responder perguntas e tirar pedidos;
5. Marketing direto: utilização de correio, telefone, fax, e-mail ou internet para se comunicar diretamente com clientes específicos e potenciais ou lhes solicitar uma resposta direta.

A Vitrine Tecnológica é um conceito interno que a Embrapa Soja utiliza para designar um conjunto de unidades demonstrativas de culti-

vares, instaladas em áreas da Unidade ou de parceiros. O objetivo da Vitrine Tecnológica é apresentar as principais tecnologias desenvolvidas ou adaptadas pelas diferentes unidades da Embrapa. Segundo Vieira (2003), a Vitrine Tecnológica tem forte sinergia de marketing com tecnologia, pois permite visibilidade, fixação e associação da marca, promoção e lançamento dos produtos por meio de dias de campo destinados ao público específico. Vieira também salienta que cursos, treinamentos, o sistema Treino & Visita, congressos, dias de campo e palestras são atividades que visam ao fortalecimento e à fidelização da marca, promovem as tecnologias geradas pela Embrapa, além de serem um ponto de captação de demandas para novas pesquisas.

Folderes, circulares técnicas, banners, placas, manuais, entre outras peças, são exemplos de ferramentas de divulgação utilizadas em eventos, com a finalidade de levar informações sobre a tecnologia ao público-alvo.

O marketing direto é executado por meio do serviço de atendimento ao cidadão - SAC, além de contato telefônico feito pelos agentes de TT. O sistema de alerta desenvolvido pela Embrapa Soja utiliza a internet como uma comunicação direta com o público específico (assistência técnica), promovendo a este informações úteis e atualizadas que servem como veículo de captação de novas demandas.

Os dias de campo apresentam tecnologias e funcionam como ferramenta de interação pessoal do agente de TT com o público de interesse.

O incentivo que a TT fornece para encorajar a experimentação da tecnologia de cultivares, por exemplo, é a disponibilização das sementes para que façam unidades demonstrativas ou faixas dessas cultivares. Dessa forma, conhecem o produto e o divulgam.

## Considerações finais

As ferramentas de comunicação de marketing utilizadas pela TT têm papel importante no cumprimento de seu objetivo que é transferir conhecimentos e tecnologias geradas pela pesquisa em benefício da sociedade.

A administração e coordenação de todo este processo se faz de forma sistêmica, com planejamento, desenvolvimento e avaliação, permitindo que seja constantemente aperfeiçoado pela equipe de TT.

## Referências

TRANSFERÊNCIA de tecnologia: a ponte entre a tecnologia e o mercado. [S.l.]: Embrapa, [2000?]. 1 folder.

IV PLANO diretor da Embrapa: 2004 – 2007. Brasília, DF: Embrapa, 2004. 20p.

VIEIRA, O.V. Marketing tecnológico, uma ferramenta de transferência de tecnologia: a experiência da Embrapa Soja. Londrina: Embrapa Soja, 2003. p.15-23. (Embrapa Soja. Documentos, 207).

KOTLER, P. Administração de marketing: a edição do novo milênio. São Paulo: Prentice Hall, 2000. p. 37-570.



# Seleção de Bactérias Promotoras para Produção Orgânica de Soja e Trigo

---

SOUZA, R.C. DE<sup>1</sup>; CATTELAN, A.J.<sup>2</sup>; BETTI, A.F.F.<sup>2</sup>; OLIVEIRA, M.C.N. DE<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL), Av. Juscelino Kubitschek, 1626, CEP 86020-000, Londrina, PR, renata@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>Embrapa Soja.

Cada dia cresce mais o consumo de orgânicos na sociedade, sendo o Paraná um dos estados que mais produz orgânicos no Brasil. Por ser produzido livre de insumos químicos, o produto orgânico é preferido por muitos consumidores e pode ser também um bom negócio para os pequenos produtores. Além disso, o custo de produção poder ser menor do que no sistema convencional, assim como os impactos sobre o meio ambiente.

A utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal pode ser uma alternativa interessante para a produção orgânica. As chamadas bactérias rizosféricas, ou rizobactérias, crescem no solo próximo às raízes (rizosfera) e são estimuladas pela exsudação de nutrientes e liberação de compostos orgânicos radiculares, enquanto outros microrganismos não são favorecidos nessas condições (Rovira, 1956a, 1956b; Cattelan et al., 1998). O uso de rizobactérias promotoras em produção orgânica pode diminuir o custo com insumos e estresses bióticos e abióticos sobre a planta. Dessa forma, bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, do grupo fluorescente, podem promover o desenvolvimento de diversas plantas quando inoculadas na semente, onde algumas estirpes aumentam o comprimento das raízes e o número de pêlos radiculares. O desenvolvimento maior e mais rápido do sistema radicular possibilita a exploração de maior volume do solo. Com isso, as plantas ficam menos suscetíveis ao déficit hídrico e à escassez de nutrientes, resistindo melhor às doenças (Cattelan & Hartel, 2000). As rizobactérias competem por nutrientes com fitopatógenos, além disso, algumas

produzem antibióticos que inibem vários tipos de patógenos, suprimindo doenças radiculares. Solubilizam nutrientes do solo (Jiang & Sato, 1994; Whitelaw et al., 1997), apresentam efeito sinérgico com a fixação simbiótica do nitrogênio, no caso das leguminosas (Fuhrmann & Wollum, 1989; Li & Alexander, 1988, 1990).

O objetivo do presente estudo foi isolar bactérias rizosféricas que promovessem o crescimento de soja e trigo em sistema orgânico, via inoculação das sementes, em casa de vegetação.

Foram testados treze tratamentos: doze bactérias, do gênero *Pseudomonas spp.* do grupo fluorescente, sendo dez isoladas de solo de área de produção orgânica, duas pertencentes à coleção da Embrapa Soja e um tratamento testemunha. As bactérias foram crescidas em meio Tripticaseína de Soja Agar diluído dez vezes (1/10 TSA), a 28 °C. As células bacterianas foram colhidas, suspensas em 0,1 M  $\text{MgSO}_4$  (pH 7,0) e a densidade óptica ajustada para a absorbância de 0,55nm a 600nm. Em cada vaso contendo 3 kg de Latossolo Roxo coletado em área de produção orgânica em fazenda localizada em Medianeira, PR, foram colocadas quatro sementes de soja BRS 184 ou oito sementes de trigo BRS 208, inoculadas separadamente com cada um dos isolados. O tratamento testemunha foi mergulhado em solução tampão. O delineamento experimental foi completamente casualizado com cinco repetições.

Após aproximadamente dez dias da semeadura, as plântulas de soja foram desbastadas uma por vaso e as de trigo para duas por vaso. As plantas foram colhidas 40 dias após a semeadura, quando foram feitas as seguintes avaliações: altura das plantas, estágio vegetativo, peso das raízes e da parte aérea secas. A análise da concentração de nutrientes no tecido encontra-se em andamento.

Foram feitas as mesmas avaliações para trigo, com a diferença que foi contado o número de perfilhos em vez de estabelecer o estágio vegetativo. Os dados finais foram submetidos à análise de variância e, quando o teste F foi significativo ao nível de 5 %, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan.

Alguns isolados de bactéria propiciaram maior desenvolvimento das plantas. As bactérias P07, P97, P106, P21 e P98 se diferenciaram da testemunha pelo maior aumento da parte aérea em soja (Tabela 1). Os isolados P07 e P105 aumentaram significativamente o peso de nódulos, sendo que o P105 aumentou também o número de nódulos. A altura das plantas e o peso das raízes não foram afetados significativamente por nenhum dos tratamentos.

**Tabela 1.** Desenvolvimento vegetativo e nodulação de plantas de soja cv. BRS 184, inoculadas com bactérias rizosféricas promotoras do crescimento, 40 dias após a semeadura em casa de vegetação. Londrina, PR, 2007.

Tratamento	Altura (cm)	Peso Seco Raízes (g)	Peso Seco P. Aérea (g)	Peso Seco Nódulos (g)	Número Nódulos
P97	29.8 NS <sup>§</sup>	0.21 NS	1.55 ab <sup>f</sup>	0.04 abc	12.6 bc
P98	29.8	0.25	1.38 abcd	0.05 abc	15.8 abc
P99	25.4	0.21	1.16 cde	0.03 c	13.4 bc
P100	25.8	0.23	1.32 bcde	0.04 abc	13.0 bc
P101	29.0	0.18	1.27 cde	0.03 c	10.4 c
P102	27.2	0.21	1.18 cde	0.03 c	7.8 c
P103	27.8	0.23	1.21 cde	0.04 abc	12.6 bc
P104	28.0	0.28	1.23 cde	0.03 c	14.4 abc
P105	29.0	0.26	1.14 de	0.06 ab	23.0 a
P106	27.6	0.25	1.54 ab	0.04 bc	16.4 abc
P07	28.6	0.21	1.59 a	0.07 a	21.4 ab
P21	27.4	0.23	1.40 abc	0.03 bc	13.2 bc
Test.	28.4	0.22	1.09 e	0.02 c	12.0 bc

fMédias de tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 %, para cada variável estudada.

§NS: As médias dos tratamentos não diferem entre si pelo teste F, ao nível de 5 %.

No trigo, os isolados P97 e P101 aumentaram significativamente a altura das plantas, enquanto o isolado P106 aumentou o número de perfolhos (Tabela 2). Nenhum tratamento afetou significativamente o peso das raízes ou da parte aérea.

Com isso, conclui-se que o uso de algumas bactérias promotoras do crescimento pode ser uma opção para melhoria da performance de soja e de trigo no sistema orgânico de produção. Como pesquisa futura, deverão ser conduzidos ensaios a campo para comprovar esses efeitos.

Tabela 2. Desenvolvimento vegetativo de plantas de trigo cv. BRS 208, inoculadas com bactérias rizosféricas promotoras do crescimento, 40 dias após a semeadura em casa de vegetação. Londrina, PR, 2007.

Tratamento	Altura (cm)	Peso Seco Raízes (g)	Peso Seco P. Aérea (g)	Número Perfilhos
P97	50.2 a <sup>£</sup>	0.32 NS <sup>§</sup>	1.05 NS	3.4 abc
P98	38.2 d	0.25	0.69	2.6 bc
P99	44.8 abcd	0.30	1.01	3.6 ab
P100	45.0 abcd	0.29	0.87	3.8 ab
P101	47.0 ab	0.25	1.02	3.0 abc
P102	42.4 bcd	0.34	1.07	3.8 ab
P103	43.2 abcd	0.32	0.99	3.0 abc
P104	42.4 bcd	0.26	0.94	3.8 ab
P105	46.0 abc	0.34	0.96	3.6 ab
P106	41.4 bcd	0.33	0.89	4.2 a
P07	42.4 bcd	0.23	0.77	2.2 c
P21	44.2 abcd	0.21	0.97	2.8 bc
Test.	38.4 cd	0.25	0.86	2.8 bc

£Médias de tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5 %, para cada variável estudada.

§NS: As médias dos tratamentos não diferem entre si pelo teste F, ao nível de 5 %.

## Referências

- CATTELAN, A.J.; HARTEL, P.G.; FUHRMANN, J.J. Bacterial composition in the rhizosphere of nodulating and non-nodulating soybean. **Soil Science Society of America Journal**, v.62., p.1549-1555, 1998.
- CATTELAN, A.J.; HARTEL, P.G. Traits associated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In: Novais, R.F.; Alvarez, V. & Schaefer, C.E.G.R. (ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p.213-234.
- FUHRMANN, J.; WOLLUM II, A.G. Nodulation competition among *Bradyrhizobium japonicum* strains as influenced by rhizosphere bacteria and iron availability. **Biol. Fertil. Soils**, v. 7, p. 108-112, 1989.
- LI, D-M.; ALEXANDER, M. Co-inoculation with antibiotic-producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. **Plant Soil**, v. 108, p. 211-219, 1988.
- LI, D-M.; ALEXANDER, M. Factors affecting co-inoculation with antibiotic-producing bacteria to enhance rhizobial colonization and nodulation. **Plant Soil**, v. 129, p. 195-201, 1990.
- JIANG, H-Y.; SATO, K. Interrelationships between bacterial populations on the root surface of wheat and growth of plant. **Soil Sci. Plant Nutr.**, v. 40, p. 683-689, 1994.
- ROVIRA, A.D. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. II. A study of the properties of root exudate and its effect on the growth of micro-organisms isolated from the rhizosphere and control soil. **Plant Soil**, v. 7, p. 195-208, 1956a.
- ROVIRA, A.D. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. III. The effect of root exudate on the numbers and activity of micro-organisms in soil. **Plant Soil**, v. 7, p.209-216, 1956b.
- WHITELAW, M.A., T.J. HARDEN; G.L. BENDER. Plant growth promotion of wheat inoculated with *Penicillium radicum* sp. nov. **Australian J. Soil Res.**, v.35, p.291-300, 1997.

# Diversidade Genética do Complexo *Diaporthe/Phomopsis* em Soja, no Brasil

---

SOLDERA<sup>1</sup>, M.C.A., VIEIRA<sup>2</sup>, N.D., LAURINDO<sup>3</sup>, D.G., MORALES<sup>4</sup>, A.M., MARIN<sup>2</sup>, S.R.R., BINNEK<sup>2</sup>, E., CONSTAMILAN<sup>5</sup>, L.M. ALMEIDA<sup>2</sup>, A.M.R. <sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná. Faculdade Luiz Meneghel, UENP-Campus Bandeirantes, PR. CEP 86360-000. E-mail: mcas@cnpso.embrapa.br, <sup>2</sup> Embrapa Soja, <sup>3</sup> Centro Universitário Filadélfia - UNIFIL, Londrina, PR, <sup>4</sup> Universidade Federal de Viçosa, MG. <sup>5</sup>Embrapa trigo.

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é um dos produtos agrícolas de maior importância para a economia nacional. Atualmente, as principais doenças relacionadas a grandes perdas na produção são causadas por fungos, entre eles destaca-se o complexo *Diaporthe/Phomopsis*, um importante grupo de patógenos da soja com uma ampla diversidade genética (PIOLI et al. 2003). O complexo *Diaporthe/Phomopsis* é responsável por doenças conhecidas como a queima da haste e da vagem, cancro da haste e podridão de sementes da soja (HENNING & FRANÇA NETO, 1984). Normalmente, o cancro da haste é uma doença de desenvolvimento lento, matando a planta dentro de 50 a 80 dias (YORINORI, 1990). Em cultivares mais suscetíveis, o desenvolvimento é mais rápido, podendo causar perda total dos campos de soja.

A avaliação da variabilidade genética dos patógenos atualmente é feita por meio de técnicas moleculares dentre as quais se destaca a Reação de Polimerase em Cadeia (*Polimerase Chain Reaction* - PCR), associada à digestão por enzimas de restrição do DNA ribossomal. Este trabalho pretende aumentar o conhecimento da estrutura genética das populações do patógeno permitindo inferências quanto à história evolutiva e correlações filogenéticas entre esses isolados, podendo fornecer importantes informações à área de melhoramento genético.

Noventa e seis isolados de *Phomopsis* sp. foram obtidos de hastes e sementes de soja de diferentes regiões do Brasil. Esses isolados foram cultivados em meio líquido BDA (batata-dextrose-agar). Para avaliar a diversidade desses isolados, utilizou-se DNA genômico por meio de marcadores RAPD (*Random Amplification Polimorphic DNA*) com 11 *primers* da *Operon Technologies*, OPAA01, OPAA06, OPAA10, OPAA15, OPAB17, OPAB19, OPAB05, OPAH01, OPAI03, OPN09 e OPAL12. Com os perfis de polimorfismo obtido foi montada uma matriz binária utilizada para a construção do dendograma (Fig.1), obtendo agrupamento de pares não ponderados baseados na média aritmética (UPGMA - *Unweighted Pair Group Method*), ilustrando a distância genética entre os isolados oriundos de diferentes regiões.

Na análise de RAPD constatou-se a produção de 2752 fragmentos, com tamanho variando de 310 a 3000 pares de bases (pb). O dendograma obtido com marcadores RAPD mostrou grande diversidade genética entre os isolados, com coeficientes de similaridade variando de 0,9 a 0,12.

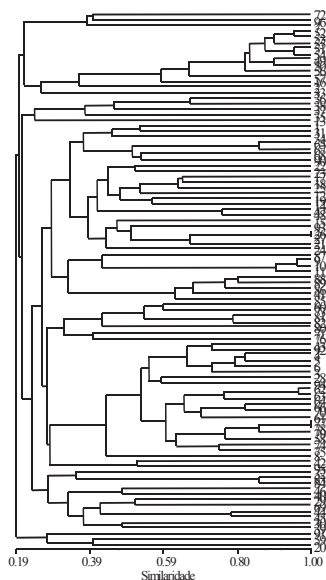
Os agrupamentos foram feitos considerando-se arbitrariamente 70 % de similaridade. Para amplificar a região foram selecionados, dentro dos vários agrupamentos, vinte isolados aos quais foram acrescentados dezoito isolados provenientes do Rio Grande do Sul (Tabela 1) para a amplificação da região do DNA ribossomal, utilizando os *primers* ITS (*Internal Transcribe Spacer*)-1F (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) e ITS-4R (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC). A região amplificada, (ITS1-5.8S-ITS2) com aproximadamente 600 pb, foi utilizada para análise de perfil eletroforético, após digestão com a enzima *Alu I*. Exceto um valor de 700 pb, observado com o isolado de Nova Ponte, todos os demais apresentaram valores similares àqueles descritos por Zhang et al. (1998). A análise da digestão com a enzima *Alu I* mostrou clivagem com vários padrões de fragmentos. As diferenças encontradas nos padrões de clivagem permitiram separar três grupos, A, B e C (Fig. 2). Os resultados de RAPD comprovaram a grande diversidade genética entre os isolados do complexo *Diaporthe/Phomopsis* obtidos em diferentes regiões geográficas do Brasil. Essas três espécies foram mencionadas anteriormente por

Vechiato et al. (2003) com isolados brasileiros e por Pioli et al. (2003), trabalhando com isolados argentinos. Por meio desses resultados constatou-se que os isolados obtidos nas diferentes regiões do Brasil e classificados neste trabalho como pertencentes aos grupos A, B e C, pertencem às espécies *D.p. var. caulivora* (26,3 %), *Phomopsis longicolla* (55,2 %) e *D.p. var. meridionalis* (13,1 %), respectivamente. Como a maioria dos isolados incluídos neste estudo são do Rio Grande do Sul (52,63 %), único local onde se constatou a espécie *D.p. var. caulivora*, a porcentagem encontrada foi proporcionalmente alta para essa espécie, considerando-se o total de isolados utilizados.

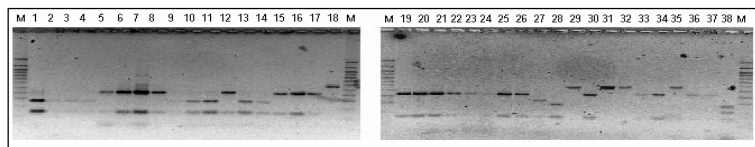
**Tabela 1.** Relação dos isolados utilizados na clivagem com enzima de restrição Alu I.

Isolado	Origem	Isolado	Origem
1	Passo Fundo-RS	20	Boa Vista-RR
2	Passo Fundo-RS	21	Boa Vista-RR
3	Passo Fundo-RS	22	Boa Vista-RR
4	Passo Fundo-RS	23	Roraima
5	Passo Fundo-RS	24	Roraima
6	Passo Fundo-RS	25	Roraima
7	Passo Fundo-RS	26	Dourados-MT
8	Passo Fundo-RS	27	Roraima-RR
9	Passo Fundo-RS	28	Passo Fundo-RS
10	Passo Fundo-RS	29	Passo Fundo-MS
11	Passo Fundo-RS	30	Catalão-GO
12	Passo Fundo-RS	31	Faxinal do Guedes-SC
13	Passo Fundo-RS	32	Faxinal do Guedes-SC
14	Passo Fundo-RS	33	Guarapuava-PR
15	Passo Fundo-RS	34	Abelardo Luz-PR
16	Passo Fundo-RS	35	CH8 <i>Dp. var meridionalis</i>
17	Passo Fundo-RS	36	Ponta Grossa-PR
18	Passo Fundo-RS	37	Ponta Grossa-PR
19	Primavera do Leste-MT	38	Nova Ponte-MG





**Fig. 1.** Dendrograma obtido por análise de agrupamento UPGMA. Isolados utilizados na reação de RAPD.



**Fig. 2** – Resultado da eletroforese da digestão com a enzima de restrição *Alu I*. Grupo A) 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 13, 14, 28, Grupo B) 5, 6, 7, 8, 12, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 30, 33, 34, 36, 37 e Grupo C) 18, 31, 32, 35. O isolado 35 foi usado como padrão *D.p. var meridionalis* e o 28 como padrão de *D.p. var caulivor* e o 19 como padrão *P. longicolla*. M- marcador 100pb.

## Referências

- HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B. Effect of *Phomopsis* spp. on soybean seed quality in Brazil. In: CONFERENCE ON THE DIAPORTHE/ PHOMOPSIS DISEASE COMPLEX OF SOYBEAN, 1984, Fort Walton Beach. **Proceedings...**Springfiled, 1984. p. 66-7.
- PIOLI, R. N.; MORANDI, E.N.; MARTÍNEZ, M.C.; LUCCA, F.; TOZZIN, A.; BISARO; HOPP, E. Morphologic, molecular, and pathogenic characterization of *Diaporthe phaseolorum* variability in the core soybean-producing area of Argentina. **Phytopathology**, v.93, 2003. p.136-146.
- TECNOLOGIAS de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2005. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrado: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, 2004. 239p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 6).
- VECHIATO, M.H.; MARINGONI, A.C.; MARTINS, E.M.F.; KOHARA, E.Y. **Caracterização de isolados de *Diaporthe ssp* e *Diaporthe Phaseolorum* var. *meridionalis***. 2003. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2003.
- YORINORI, J.T. **Cancro da haste da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1990. 8p. (EMBRAPA CNPSo, Comunicado técnico, 44).
- ZHANG, W.; HARTMAN, G.L.; RICCIONI, L.; CHEN, W.D.; PEDERSEN, W.L. Using PCR to distinguish *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* from other soybean fungal pathogens and to detect them in soybean tissues. **Plant Disease**, v.81, 1997. p. 1143-1149.
- ZHANG, W.; RICCIONI, L.; PEDERSEN, W.L.; KOLLIPARA, K.P.; HARTMAN, G.L. Molecular identification and Phylogenetic Grouping of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* isolates from soybean. **Phytopathology**, v.88, 1998. p. 1306-1314.

# **Criação do Banco de Dados de “Coleção de Culturas E de Genes de Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas”**

---

HIGASHI, S. <sup>1</sup>; HUNGRIA, M. <sup>2</sup>; <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, Caixa Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina-PR, shigashi@dc.uel.br; <sup>2</sup>Embrapa Soja.

A manutenção das coleções de culturas é um item primordial quando há necessidade de utilização dos recursos genéticos microbianos. Portanto, tais coleções atuam como centros de conservação *ex-situ* de recursos genéticos e são essenciais na exploração da diversidade genética e metabólica como, nas atividades de bioprospecção. As coleções de cultura podem atuar como coleções de serviço, pois, além da preservação dos recursos microbiológicos, oferecem oportunidades de envio de material biológico para instituições de pesquisa, universidades, indústrias, entre outros; e de informações (taxonômicas, fisiológicas, de isolamento, etc.) que facilitem a utilização dos recursos microbianos (BARATA, 2006).

O suporte a essas coleções exige o armazenamento das informações relacionadas aos microorganismos envolvidos. Consequentemente, a utilização de bancos de dados torna-se extremamente importante para manter a integridade e a organização dessas informações. Para que essas informações possam ser utilizadas, elas devem ser devidamente organizadas no banco de dados, necessitando de registro e documentação (HEUSER, 2004).

Os bancos de dados de coleções de culturas devem conter informações do nome do organismo, do número da linhagem, do número em outras coleções, do histórico, do tipo de organismo, das restrições, das condições de crescimento, dos dados de isolamento (data, nome e localida-

de), dos dados taxonômicos (características morfológicas, fisiológicas), das referências bibliográficas, e do nome, endereço e assinatura do depositante (Sette, 2006).

O Laboratório de Biotecnologia dos Solos da Embrapa Soja está desenvolvendo atualmente um projeto para a criação de uma coleção de culturas de bactérias de importância agroindustrial: diazotróficas e promotoras do crescimento de plantas. O objetivo é criar um banco de dados que organizará as informações relativas às culturas microbianas.

Todo projeto de banco de dados segue alguns processos (modelagem conceitual, lógica e física) e técnicas específicas. Portanto, a metodologia adotada seguiu-se conforme os itens:

**Modelagem conceitual:** o estabelecimento do modelo conceitual baseou-se no estudo dos dados referentes a 148 estirpes de bactérias diazotróficas simbióticas (rizóbios) da “Coleção de Cultura de Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas” da Embrapa Soja analisadas por Menna et. al (2006) e GERMANO et al., 2006. A abordagem ER (Entidade-Relacionamento) foi selecionada, pois é considerada a técnica de modelagem conceitual mais difundida.

A ferramenta utilizada para a construção do diagrama ER foi o editor visual DBDesigner 4.

**Modelagem lógica:** após exaustivas verificações e respectivas validações do modelo conceitual, o modelo lógico foi construído usando-se simplesmente um editor de texto.

**Modelagem física:** O modelo físico fundamentou-se no modelo lógico. A construção do banco de dados foi efetuada por meio do Sistema de Gerenciamento de Banco de Dados (SGBD) MySQL Database 5.0.16.

Durante o período de trabalho, todos os campos do banco de dados foram testados exaustivamente com o objetivo de verificar a adequação do banco a seu real objetivo.

Inicialmente, foram realizados um levantamento e um estudo dos bancos de dados utilizados atualmente para armazenar informações sobre coleções de culturas. Só assim, foi possível construir os modelos conceitual e lógico coerentes com o problema proposto. Baseando-se nos modelos previamente estabelecidos, a implementação (modelo físico) do banco foi efetivada.

A seguir, deu-se início à organização dos primeiros dados para a realização de exaustivos testes do banco. Após a aprovação do banco de dados em todas as avaliações, verificou-se que a estrutura proposta era realmente adequada.

Somente após o estabelecimento do banco foi possível estruturar o site que constitui a interface banco-usuário. A implementação do site está sendo feita pelo Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC) e estará disponível no domínio [www.colcentrosul.incc.br](http://www.colcentrosul.incc.br).

A partir dos resultados apurados, foi possível concluir que:

Devido à grande quantidade de informações derivadas das coleções de culturas bacterianas, os bancos de dados tornam-se indispensáveis.

O uso de banco de dados permite organização e o armazenamento das informações das coleções de culturas, o que é primordial quando o objetivo é disponibilizá-las de alguma forma (neste caso, através de um site).

Como SGBD o MySQL mostrou-se adequado para as tarefas propostas.

O compartilhamento dos dados referentes aos microorganismos é essencial para a comunidade científica e industrial, já que proporciona maior conhecimento sobre os mesmos, viabilizando os processos de controle de qualidade, preservação da biodiversidade e permitindo possíveis inovações tecnológicas.

## Referências

GERMANO, M. G.; MENNA, P.; MOSTASSO, F. L., HUNGRIA, M. RFLP analysis of the rRNA operon of a Brazilian collection of bradyrhizobial strains from 33 legume species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.56, p.217-229, 2006.

HEUSER, C. A. **Projeto de banco de dados**. 5ª ed. Porto Alegre: Sagra Luzzatto, 2004. 254p. v.4. (Livros didáticos)

MENNA, P., HUNGRIA, M., BARCELLOS, F. G., BANGEL, E. V., HESS, P. N., MARTÍNEZ-ROMERO, E. Molecular phylogeny based on the 16S rRNA gene of elite rhizobial strains used in Brazilian commercial inoculants. **Systematic and Applied Microbiology**, v.29, p.315-332, 2006.

SETTE, L. D. **Recursos humanos e infra-estrutura para coleções microbiológicas**. Disponível em: <<http://www.cria.org.br/cgee/documentos/infraestrutura.doc>>. Acesso em: 20 jun. 2006.

BARATA, G. **Patrimônio genético é estocado para aplicações futuras**. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/reportagens/geneticos/gen04.shtml>>. Acesso em: 22 maio. 2006.

# **Estado Nutricional de Soja Transgênica e Não-Transgênica, com os Respectivos Manejos Associados ao Uso dessas Cultivares**

---

STANZANI, E. L.<sup>1,2</sup>; BABUJIA, L. C.<sup>1</sup>; PEREIRA, A. S.<sup>3</sup>; SOUZA, R. A.<sup>4</sup>; FRANCHINI, J.C.<sup>4</sup>; HUNGRIA, M.<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Química, Caixa Postal, 6001, 86051-970, Londrina-PR; <sup>2</sup>Bolsista de iniciação científica do PIBIC; <sup>3</sup>Biotecnologia UEL; <sup>4</sup>Embrapa soja

O uso da soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato tem aumentado rapidamente nos últimos anos no Brasil, chegando a aproximadamente 50 % da área, segundo estimativas da Embrapa Soja na última safra (2006/2007). Os efeitos do glifosato sobre a contaminação do solo, da água e do ar têm sido considerados mínimos em relação aos herbicidas que ele substitui (Cerdeira & Duke, 2006). Por outro lado, teoricamente, cultivares geneticamente modificadas seriam alteradas somente em sua capacidade de resistência ao herbicida. Na prática, porém, a complexidade do genoma da soja pode resultar em que a introdução de um novo gene altere a regulação de outros genes (Gresshoff, 1993).

O N é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja. Essa necessidade de N pode ser suprida pelo processo de FBN, resultante da simbiose estabelecida com bactérias pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*. Nas condições brasileiras, o processo de FBN é responsável por 85 %, ou mais, do N total acumulado pelas plantas. Consequentemente, hoje no Brasil, pensar na cultura da soja sem uma otimização do processo de FBN é inviável (Vargas & Hungria, 1997; Hungria et al., 1999, 2001). Em termos nutricionais, têm sido observadas alterações no estado nutricional da soja geneticamente modificada em função de diferenças na formulação do glifosato, com alteração nos

teores de N, Ca, Mg, Fe e Cu (Santos et al., 2007). Não existem, porém, resultados sobre o desempenho das cultivares de soja contendo ou não o transgene CP4 EPSPS em relação à FBN e à absorção de outros nutrientes.

Deste modo, é importante avaliar se a soja geneticamente modificada para tolerância ao glifosato, bem como do manejo a ela associado, com o uso repetido de um herbicida específico, esta afetando o balanço nutricional e a sustentabilidade do sistema produtivo da soja.

As áreas de experimentação forão implantadas em seis locais: Londrina (PR), Ponta Grossa (PR), Passo Fundo (RS), Uberaba (MG), Planaltina (DF) e Luiz Eduardo Magalhães (BA). A calagem e as adubações básicas com P e K, dos distintos experimentos, foram calculadas em função da fertilidade de cada solo e da recomendação para aquela região. O controle de pragas foi efetuado sempre que necessário, de forma a não interferir nos resultados dos experimentos. A inoculação das sementes de soja foi realizada com inoculante turfoso, produzido pela Embrapa Soja, contendo 108 células/g de turfa e contendo a combinação de estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5080. A semeadura foi manual, com 25 a 30 sementes viáveis por metro linear. As parcelas experimentais tinham 5 m x 6 m (área útil de 2 x 3 m) e foram distanciadas em 1 m. As parcelas foram compostas por 10 linhas com 0,5 m de espaçamento.

Dois materiais genéticos foram utilizados em todas as regiões, Conquista e BRS 133, com suas respectivas linhagens modificadas, ValiosaRR e BRS245RR. Além disso, como terceiro material genético, no Paraná e Rio Grande do Sul foi utilizada a cultivar Embrapa 59 e sua respectiva transgênica BRS 244RR e, nas outras regiões, a Jataí e a sua respectiva transgênica BRS SilvaníaRR. As cultivares geneticamente modificadas foram obtidas após seis retrocruzamentos. Os tratamentos consistiram, para cada cultivar: T1: soja geneticamente modificada + herbicida glifosato (RR GLI); T2: soja geneticamente modificada + herbicidas convencionais (RR HC); T3: soja não modificada + herbicidas convencionais (NM HC); T4: soja geneticamente modificada + capina manual (RR CAP); T5: soja não modificada + capina manual. (NM CAP).



Os ensaios foram conduzidos na safra 2005/2006 em blocos ao acaso, com 6 repetições, totalizando 90 parcelas. Todas as áreas foram conduzidas no sistema de plantio direto na palha. No inverno, as áreas foram cultivadas com aveia preta (*Avena strigosa* L.) ou trigo (*Triticum aestivum* L.), em Londrina e Passo Fundo, e com milheto (*Pennisetum americanum*), nas demais áreas.

O manejo com herbicidas convencionais foi realizado utilizando Classic® para folhas-largas (aplicado 30 dias após emergência, 80 g/ha) e Select® para folhas estreitas (aplicado 40 dias após emergência, 400 mL/ha + 0,5 % de óleo mineral). O manejo com glifosato foi realizado utilizando Round up Transorb® (aplicado 30 dias após emergência, 2 L/ha)

Foi realizada a amostragem de 20 folhas por parcela, correspondentes à terceira folha, a partir do ápice das plantas, em toda a parcela, no estágio R3. As amostras foram lavadas com água deionizada, secas em estufa e moídas. Foram analisados os teores de N, macro e micronutrientes. O N foi determinado por digestão Kjeldahl. Para a determinação dos demais nutrientes, o material foi digerido com ácido nítrico e perclórico. Alíquotas apropriadas foram usadas para a determinação de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Zn, Cu, Mn, B e Fe) por espectroscopia de emissão atômica induzida por plasma (ICP-AES). Os valores foram utilizados para a avaliação do estado nutricional por meio dos seguintes contrastes: C1: soja geneticamente modificada x soja não modificada (RR x NM); C2: soja geneticamente modificada + herbicida convencional x soja não modificada + herbicida convencional (RR HC x NM HC); C3: soja geneticamente modificada + capina x soja não modificada + capina (RR CAP x NM CAP); C4: soja geneticamente modificada + glifosato x soja não modificada + herbicida convencional (RR GLI x NM HC).

Os resultados obtidos indicaram efeitos da modificação genética da soja, pela introdução do gene de tolerância ao glifosato, na nutrição mineral da soja. Para simplificação dos resultados são apresentados o número de contrastes significativos ( $P < 0,05$ ), para cada nutriente, considerando os seis locais (Fig. 1 e 2).

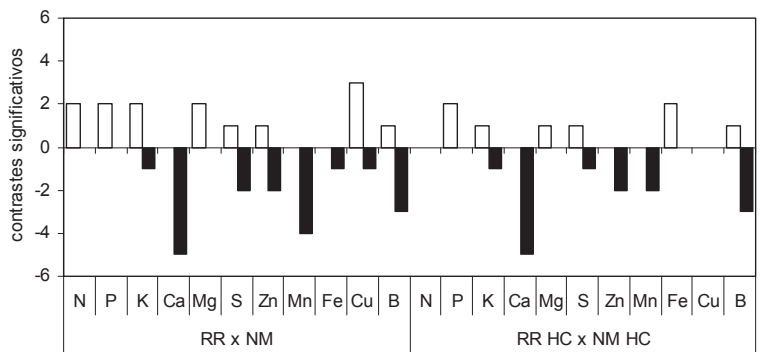
Quando considerados os contrastes entre todas as medias dos tratamentos envolvendo materiais geneticamente modificados e não modificados (Fig. 1), N, P e Mg apresentaram dois contrastes significativos e positivos, indicando que para esses nutrientes a modificação genética proporcionou aumento de seus teores em relação ao material não modificado. Por outro lado, Ca e Mn apresentaram 5 e 4 contrastes significativos e negativos, respectivamente, indicando que para esses nutrientes a modificação genética proporcionou diminuição de seus teores em relação ao material não modificado.

Os demais nutrientes apresentaram alternância entre contrastes significativos positivos e negativos ou no contraste principal (Fig. 1) ou nos desdobramentos de contrastes (Fig. 2), o que indica que o comportamento desses nutrientes sofreu influência de fatores não controlados no estudo.

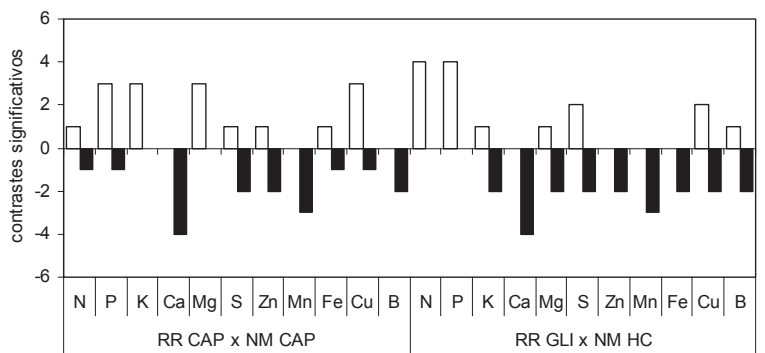
Para N e P também ocorreu alternância de contrastes significativos positivos e negativos quando considerado o contraste de materiais geneticamente modificados e não modificados manejados com capina (Fig. 2). No entanto, o maior número de contrastes significativos para esses nutrientes foi observado no contraste de materiais geneticamente modificados e não modificados manejados com glifosato e herbicida convencional, respectivamente, indicando interações entre a transgênia e o glifosato na nutrição da soja. Possivelmente o glifosato e a transgênia teriam menor efeito sobre a absorção desses nutrientes do que o uso de herbicidas convencionais pós-emergentes, que notadamente causam intensos efeitos fitotóxicos.

O Ca apresentou os resultados mais consistentes entre os nutrientes avaliados, tendo seu teor reduzido tanto pela modificação genética (Fig. 3) quanto pela aplicação de glifosato (Fig. 2). Duke et al. (1983) observaram redução do teor de Ca em plantas de soja tratadas com glifosato. Os autores observaram que quatro dias após a aplicação do glifosato a translocação de Ca para as raízes e o hipocótilo era drasticamente reduzida.

De forma geral, pode-se afirmar que a modificação genética da soja para conferir tolerância ao glifosato tem efeito marcante no balanço nutricional da cultura, com destaque para N, P, Ca, Mg e Mn.



**Fig. 1.** Contrastes significativos entre materiais geneticamente modificados (RR médias) e não modificados (NM) e entre materiais geneticamente modificados (RR HC) e não modificados (NM HC), tratados com herbicida convencional, em seis locais, para 11 nutrientes. Valores negativos indicam menor teor do nutrientes no material geneticamente modificado e vice-versa para os valores positivos.



**Fig. 2.** Contrastes significativos entre materiais geneticamente modificados (RR CAP) e não modificados (NM CAP), manejados com capina manual e entre materiais geneticamente modificados manejados com glifosato (RR GLI) e não modificados (NM HC), manejados com herbicida convencional, em seis locais, para 11 nutrientes. Valores negativos indicam menor teor do nutrientes no material geneticamente modificado e vice-versa para os valores positivos.

## Referências

- SANTOS, J.B.; FERREIRA, E.A.; REIS, M.R.; SILVA, A.A.; FIALHO, C.M.T.; FREITAS, M.A.M. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja round up ready. **Planta Daninha**, 25:165-171, 2007.
- DUKE, S.O.; WAUCHOPE, R.D.; HOAGLAND, R.E.; WILLS, G.D. Influence of phyphosate on uptake and translocation of calcium ion in soybean seedlings. **Weed Research**, 23:133-139, 1983.
- CERDEIRA, A.L.; DUKE, S. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A review. *Journal of Environmental Quality*, 35:1633-1658, 2006.
- GRESSHOFF, P.M. Plant function in nodulation and nitrogen fixation in legumes. In: PALACIOS, R.; MORA, J.; NEWTON, W.E., eds. **New horizons in nitrogen fixation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p.31-42.
- VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do N<sub>2</sub> na cultura da soja. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M., eds. **Biologia dos solos de Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. p.297-360.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; VARGAS, M.A.T.; CATTELAN, A.J.; MENDES, I.C. Microbiologia do solo e produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1. Londrina, 1999. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1999. p.126-137. (Embrapa Soja. Documentos, 124).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. (Embrapa Soja. Circular Técnica 35/ Embrapa Cerrados. Circular Técnica 13). 48p.

# Sequestro Diferencial de Carbono em Frações Obtidas por Ultrassonificação

---

BABUJIA, L. C.<sup>1</sup>; STANZANI, E. L.<sup>1,2</sup>; SILVA, A. P.<sup>3</sup>; SOUZA, R. A.<sup>4</sup>; FRANCHINI, J.C.<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Química, Caixa Postal, 6001, 86051-970, Londrina-PR; <sup>2</sup>Bolsista de iniciação científica do PIBIC; <sup>3</sup>Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Biotecnologia; <sup>4</sup>Embrapa soja

A matéria orgânica do solo (MOS) desempenha funções fundamentais para os processos físicos, químicos e biológicos do solo, sendo a principal responsável pela formação e estabilidade de agregados que, por sua vez, determinam uma estrutura mais adequada para o estabelecimento e desenvolvimento das culturas. A agregação do solo ainda é importante para a proteção física da MOS, para o fornecimento adequado de água e oxigênio para as raízes, para o fornecimento de microhabitats para a macro e microfauna do solo e para formação de poros de maior diâmetro que favorecem a infiltração de água, reduzindo o escoamento superficial e a erosão.

O manejo inadequado, com excessivo revolvimento, pode causar uma rápida deterioração da estrutura devido à desorganização do ambiente do solo e ao consequente aumento nos processos de oxidação da MOS.

A fração argila do solo desempenha um importante papel no processo de acúmulo de matéria orgânica por apresentar alta superfície específica e atuar como ponte entre a matéria orgânica e cátions polivalentes no processo de formação de agregados. No entanto, existe um potencial limitado de acúmulo de matéria orgânica na fração argila do solo, mesmo quando utilizados sistemas conservacionistas, como o plantio direto, com alta taxa de produção e conservação de material orgânico. O fracionamento físico do solo permite a separação de frações suficientemente distintas quanto ao seu papel na dinâmica da matéria orgânica e nutrientes no ambiente.

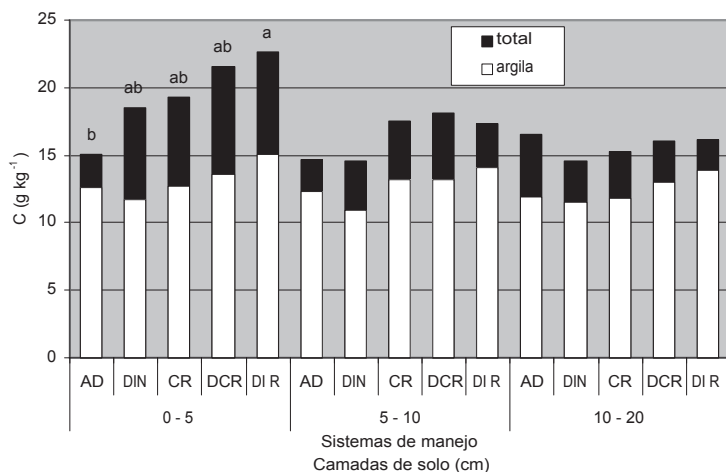
Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento do carbono presente na fração argila de sistemas de manejo do solo com diferentes graus de revolvimento do solo.

O estudo foi conduzido com amostras coletadas em experimento de longo prazo, estabelecido em 1989 na fazenda experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Foram amostrados os tratamentos sob plantio direto contínuo (DIR), plantio direto com uso de arado cruzador a cada três anos (DCR), plantio direto no verão e uso de arado cruzador no inverno (CR), plantio convencional com arado de discos (AD) e plantio direto com quatro anos, após 14 anos de plantio convencional com arado de aiveca (DIN). Os sistemas foram sempre cultivados com a sucessão soja/trigo. Em janeiro de 2007, foram coletadas amostras de solo nas camadas 0 cm-5 cm, 5 cm-10 cm e 10 cm-20 cm de profundidade. As amostras foram secas ao ar, passadas em peneira de 2 mm e analisadas quanto ao teor total de carbono, determinado por oxidação com dicromato em meio ácido, segundo Alisson (1965).

Em seguida, amostras em triplicata foram submetidas ao fracionamento físico para obtenção da fração argila. Em frascos de vidro com capacidade para 300 mL foram adicionados 15 g de solo e 100 mL de água. As amostras foram agitadas a 175 rpm por 60 minutos, transferidas para um recipiente hermético, quando o volume foi completado para 150 mL e submetidas a ultrassonificação durante 180 s. As amostras foram sonificadas inserindo a sonda 2 cm na suspensão. Nessas condições as amostras foram submetidas a uma potência de 30 J. Durante a sonificação, as amostras foram mantidas em um banho de gelo para que a temperatura da suspensão não excedesse 30 °C. Após a sonificação, as amostras foram passadas em peneira de 0,053 mm e a solução resultante foi acondicionada em provetas de plástico e o volume completado com água para 1 L. As amostras foram homogeneizadas com auxílio de uma haste durante 30 segundos, permanecendo em repouso por 17 horas. Após o repouso, foram coletados os primeiros 25 cm de solução de solo da proveta, transferindo-se o volume obtido para um béquer. Adicionou-se cloreto de cálcio para floculação da argila em suspen-

são. O material resultante foi seco em estufa a 60 °C por 72 horas. As amostras foram maceradas e analisadas quanto ao seu teor de carbono, segundo a metodologia descrita anteriormente.

O carbono total do solo apresentou variação significativa apenas na camada superficial do solo 0 cm-5 cm. Nessa camada de solo, o C aumentou à medida que diminuiu a intensidade de revolvimento do solo, porém a diferença foi significativa apenas entre o sistema de plantio convencional com arado de discos (AD) e o sistema de plantio direto contínuo (DIR). O sistema de plantio direto com apenas quatro anos (DIN) apresentou teor de C semelhante ao do sistema de plantio convencional, indicando a importância do tempo para que alterações significativas sejam observadas no C total do solo.



**Fig. 1.** Carbono total e na fração argila em camadas de solo de sistemas de manejo. Plantio convencional com arado de disco (AD), plantio direto com quatro anos, após 14 anos de plantio convencional com arado de aiveca (DIN), plantio direto no verão e arado cruzador no inverno (CR), plantio direto com uso de arado cruzador a cada três anos (DCR) e plantio direto contínuo (DIR). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

O carbono da fração argila não apresentou diferenças significativas entre os sistemas de manejo, apesar de haver sido observada uma tendência de aumento do C na camada superficial com a redução da intensidade de revolvimento do solo, semelhante ao que foi observado para o C total. Isso indica que o C associado à fração argila nesse solo apresenta alta estabilidade à decomposição, não sendo influenciado pela intensidade de revolvimento do solo.

Os resultados indicam que o acúmulo de C no plantio direto, em relação ao plantio convencional, ocorreu em frações de maior tamanho do que a argila. Esse comportamento está de acordo com os resultados obtidos por Madari et al.; 2005. Os autores observaram que as diferenças mais pronunciadas, tanto no teor de carbono quanto na estabilidade de agregados entre o sistema de plantio direto e convencional ocorreram na camada superficial 0 cm-5 cm. Nessa camada, o plantio direto apresentou maior estabilidade de macroagregados e maior teor de carbono em relação ao plantio convencional, sugerindo que o aumento da macroagregação foi o principal mecanismo responsável pelo aumento do carbono no solo.

O aumento na intensidade de revolvimento do solo diminuiu a quantidade de carbono total acumulado devido à redução de frações de carbono não associadas à fração argila.

## Referências

ALISSON, L.E. Organic carbon. In: Black, C.A. (Ed.) **Methods of soil analysis**. Part II. American Society of Agronomy, Madison, WI, 1965. pp. 1367-1378.

MADARI, B.; MACHADO, P.L.O.A.; TORRES, E.; ALUÍSIO G. A.; VALENCIA, L.I.O. No tillage and crop rotation effects on soil aggregation and organic carbon in a Rhodic Ferrasol from southern Brazil; **Soil & Tillage Research**, 80: 185-200, 2005.



# **Desenvolvimento de Métodos de Estimativas de Riscos Climáticos para a Cultura do Girassol: Risco Hídrico**

---

CARDOSO, M.R.<sup>1</sup>; QUINELATO, A.L.<sup>1</sup>; ALMEIDA, I.R.<sup>2</sup>; FARIAS, J.R.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP:86051-990, Londrina-PR; <sup>2</sup>Embrapa Soja.

No contexto atual, é grande o potencial da cultura do girassol como componente de sistemas de produção mais diversificados e rentáveis, gerando assim, grande expectativa de expansão nas regiões do Brasil. Isso faz com que a demanda de informações técnico-científicas aumente visivelmente para que venha viabilizar a exploração da cultura em termos comerciais, de modo a gerar maiores ganhos aos agricultores. Na agricultura de hoje, incrementos na produtividade e redução dos custos e dos riscos de insucesso dependem cada vez mais do uso criterioso dos recursos. Nesse processo, o agricultor deve tomar decisões em função dos fatores de produção disponíveis e dos níveis de risco envolvendo sua atividade, visando à obtenção de uma maior rentabilidade.

O girassol é uma espécie pouco influenciada pelas variações de latitude e altitude, tolerante a baixas temperaturas e relativamente resistente à seca, apresentando assim uma facilidade para adaptação a diversos ambientes (Castro,1996). O consumo de água pela cultura do girassol varia em função das condições climáticas, da duração do ciclo e do manejo do solo e da cultura. Solos bem preparados e/ou com alta capacidade de armazenamento de água permitem à planta tolerar maiores períodos sem chuva e/ou irrigação (Unger, 1990). A necessidade de água para o girassol vai aumentando com o desenvolvimento da planta. Parte de valores ao redor de 0,5 mm/dia a 1 mm/dia, durante a fase da semeadura à emergência, atinge um máximo de 6 mm/dia a 7 mm/dia, na floração e no enchimento de grãos, decrescendo após esse período (Unger, 1990;

et al., 1992). Uma adequada disponibilidade de água durante o período da germinação à emergência é necessária para se obter uma boa uniformidade na população de plantas. As fases de desenvolvimento da planta mais sensíveis ao déficit hídrico são: do início da formação do capítulo ao começo da floração, afetando mais o rendimento de grãos; e formação e enchimento de grãos, afetando mais a produção de óleo. De uma forma prática, a fase mais crítica ao déficit hídrico é o período compreendido entre cerca de 10 a 15 dias antes do início do florescimento e 10 a 15 dias após o final da floração.

Diante desse contexto, definindo áreas menos sujeitas a riscos de insucessos devido à probabilidade de ocorrência de determinadas condições climáticas, o objetivo do trabalho foi desenvolver metodologia para estimativa de risco hídrico à cultura do girassol permitindo, assim, delimitar as áreas e épocas de semeadura com menor risco climático hídrico para o desenvolvimento da cultura. Tais informações podem subsidiar a definição de políticas agrícolas e a tomada de decisões pelo setor produtivo. Buscam, também, a obtenção de maiores rendimentos e menores riscos, levando à exploração mais racional da cultura, bem como ao incremento da produção e da produtividade da mesma. Para tanto, a partir do emprego de modelos de simulação, sistemas geográficos de informação e geoestatística, foram classificadas as regiões mais aptas ao cultivo de girassol, em função das disponibilidades climáticas e hídricas de cada região e das exigências bioclimáticas da cultura.

Primeiramente, foi montado um banco de dados climáticos contendo valores diários de precipitação pluviométrica, temperatura e umidade relativa do ar, observados num período mínimo de 15 anos. Esses dados climáticos foram obtidos junto ao IAPAR, INMET e ANA (Agência Nacional de Águas). De posse dos dados, estes foram analisados e comparados com séries disponíveis, corrigindo-se e preenchendo-se as lacunas existentes, a fim de melhorar e corrigir eventuais falhas que aparecessem. Assim, estimaram os índices de risco à cultura do girassol, por meio da geoestatística, distribuições de frequência e de probabilidades, a partir do uso de modelos de simulação. Esses modelos foram usados

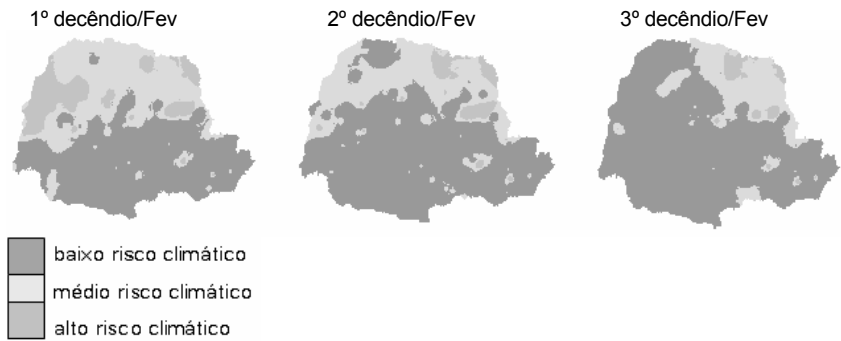
para estimar o desenvolvimento da cultura do girassol sob as diferentes condições de clima e de solo e características das regiões em estudo. Para tanto, foi usado o modelo SARRA para estimar o balanço hídrico (Cirad, 1995). Os principais dados de entrada para esse modelo são: precipitação pluviométrica diária, evapotranspiração potencial decendial, coeficientes de cultura ( $K_c$ ), duração do ciclo e das fases fenológicas da cultura e capacidade de água disponível no solo, em função da retenção de água pelo solo e pelo sistema radicular. Foram utilizados dados experimentais da cultura do girassol, obtidos em vários anos anteriores, representativos das regiões em estudo, bem como as séries climáticas, com valores diários de temperatura do ar, evapotranspiração potencial e precipitação pluviométrica, observados no mesmo período.

Para a espacialização dos resultados, foram empregados os índices de riscos climáticos obtidos, associados à localização geográfica da respectiva região, para posterior espacialização dos mesmos, utilizando-se um sistema de informações geográficas (Idrisi ou Spring) (Assad e Sano, 1993). Convertidos os dados e feitas as transformações necessárias na espacialização dos valores, foram verificados os erros e ajustados os valores das interpolações, confeccionando-se, então, os mapas nos quais estão definidas as áreas de maior ou menor risco hídrico à cultura do girassol. Esses mapas foram gerados em formato Spring, para permitir posterior uso, manuseio e impressão em formato compatível com padrão PC-Windows.

Para viabilizar o trabalho, foram considerados três tipos de solo: 30mm, 50mm e 75mm, em função dos valores de CAD (capacidade de água disponível), decorrentes dos teores de argila no solo e profundidade efetiva do sistema radicular (Tabela 1). As principais regiões produtoras de girassol foram classificadas em três grandes zonas de aptidão climática à cultura, em função da probabilidade de perdas por ocorrência de déficit hídrico durante a fase de desenvolvimento mais crítica: a) zonas de baixo risco climático; b) zonas de médio risco climático; e c) zonas de alto risco climático (Fig. 1).

**Tabela 1.** Valores de CAD (capacidade de água disponível), em função dos teores de argila no solo e profundidade média efetiva do sistema radicular da cultura do girassol (50mm).

SOLO	CAD
Tipo 1 → Argila < 15%	30mm
Tipo 2 → 15-45% de Argila	50mm
Tipo 3 → Argila > 45%	75mm



**Fig. 1.** Risco hídrico climático à cultura do girassol, em semeaduras no mês de fevereiro, no Estado do Paraná, para cultivares com ciclo de 115 dias e solos com retenção média de água (50mm).

Verifica-se que o risco hídrico à cultura do girassol é muito variável em função do local e da época de semeadura. Assim, tendo um conhecimento prévio sobre a cultura e de posse dos mapas de riscos gerados em função das exigências bioclimáticas das plantas e das disponibilidades climáticas de cada região, fica mais fácil para o produtor de girassol tomar decisões para a instalação das lavouras, evitando áreas e épocas de semeadura com maior risco climático. Ele poderá, também, tomar certos cuidados com a cultura, de maneira a garantir maiores produtividades com menor risco.

## Referências

ASSAD, E.D.; SANO, E.E. **Sistema de informações geográficas: aplicações na agricultura**. Planaltina; EMBRAPA-CPAC, 1993. 247p.

BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M.A.; MATZENAUER, R.; FONTANA, D.C.; CUNHA, G.R.; SANTOS, M.L.V.; FARIAS, J.R.B.; BARNI, N.A. **Agrometeorologia aplicada à irrigação**. Porto Alegre: UFRGS, 1992. 125p. (Série Livro Texto. 17).

CASTRO, C.; CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A.; LEITE, R.M.V.B.; KARAM, D.; MELLO, H.C.; GUEDES, L.C.A.; FARIAS, J.R.B. **A cultura do girassol**. Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1996, 38 p. (EMBRAPA-CNPSO. Circular Técnica, 13).

CIRAD. **SARRA - Guide d'utilisation**. Montpellier: Unité de Recherche "Gestion de l'eau", 1995. 68p.

# Os Veículos de Comunicação Dirigida da Embrapa Soja

---

FERREIRA, L.L.<sup>1</sup>, GALERANI, G.S.M.<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina – UEL, Cx. Postal 6001 CEP 86051-990 - Londrina - PR, <sup>2</sup>Embrapa Soja

O profissional de Relações Públicas adquire conhecimentos fundamentados na Ciência da Comunicação, visando a correta utilização dos recursos e técnicas comunicacionais para planejar, de forma global e unificada, a comunicação organizacional, com a finalidade de melhorar o relacionamento entre a organização e seus múltiplos públicos.

Cândido Teobaldo de Andrade, em seu livro “Curso de Relações Públicas”, afirma que “o fato determinante para o sucesso das organizações com o seu público interno é que tenham um processo de comunicação de qualidade, pelo qual as informações fluam intensamente desde a alta direção da companhia até o pessoal do chão de fábrica” (Andrade, 2003).

Com o crescimento das instituições e do seu quadro de funcionários, a comunicação interpessoal perde espaço gradualmente, devido à hierarquização da empresa. Por isso, direcionar a comunicação passa a ser fundamental para o bom andamento das relações entre os públicos da instituição.

A Embrapa Soja, uma das 41 unidades da Embrapa, dispõe de uma estrutura denominada Área de Comunicação Empresarial que se responsabiliza por administrar as ações de Comunicação entre a Instituição e seus Públicos estratégicos.

Uma Pesquisa de Opinião Interna realizada em dezembro de 2004 e uma outra Pesquisa de Clima realizada em outubro de 2005, além da Política de Comunicação da Embrapa e do Plano de Trabalho da Chefia, serviram de base para que a Área de Comunicação Empresarial (ACE) desenvolvesse um Plano de Comunicação Interna, que tem como principal objeti-

vo propor melhorias no processo de comunicação interna, considerando as necessidades levantadas nas duas pesquisas realizadas.

Dentre as principais ferramentas utilizadas pela ACE da Embrapa Soja para manter a qualidade no relacionamento com os seus diversos públicos e atingir os objetivos do Plano de Comunicação Interna estão os veículos de comunicação dirigida que são definidos por Andrade como um “processo que tem por finalidade transmitir ou conduzir informações para estabelecer comunicação limitada, orientada e frequente com determinado número de pessoas homogêneas e identificadas” (Andrade, 1985, p.24).

Fortes (2003) explica que esses veículos têm o papel principal na atividade de Relações Públicas e os classificam em comunicação dirigida escrita, oral, auxiliar e aproximativa.

## **Veículos de comunicação dirigida escrita**

Os veículos de comunicação dirigida escrita usam uma linguagem adequada ao público que desejam atingir. Os materiais escritos certificam uma maior durabilidade às informações veiculadas e servem como material de referência para vários grupos. Esse veículo é muito utilizado na Embrapa por meio dos murais, que são estrategicamente distribuídos em todos os prédios para a fixação de periódicos, cartazes, agenda de eventos, entre outros. Os principais periódicos são o “todos.com”, veículo de comunicação eletrônico editado, principalmente, pela Embrapa Sede (Brasília/DF) e o “Em dia”, também eletrônico, editado diariamente pela ACE da Embrapa Soja.

O Mural Temático, fixado em frente ao restaurante, é um outro veículo de comunicação extremamente importante. Sempre com textos sucintos, informações completas e bem ilustrado, tem uma resposta muito positiva dos públicos da Unidade. Os temas são alternados semanalmente e variam entre Institucionais, Divulgação de Eventos que a Embrapa participa, Campanhas Internas e Datas comemorativas. Como exemplo

de murais já desenvolvidos, pode-se citar:

Institucionais: Semana Nacional de Ciência e Tecnologia; Formação de um profissional de Pesquisa & Desenvolvimento; Produção Orgânica x Produção Convencional de soja; Processo de Seleção de Nova Chefia.

Datas comemorativas: Dia dos Pais; Semana do Livro; Aniversário da Embrapa; Dia das Crianças; Semana da Pátria.

Divulgação de eventos que a Embrapa Soja participa: Congresso Brasileiro de Soja; Curso de Tetrázólio; Semana Interna de Prevenção de Acidentes do Trabalho; Exposição Agropecuária de Londrina; Show Rural da COOPAVEL.

Campanhas Internas: Embrapa contra a dengue; Campanha de arrecadação de brinquedos; Maratona Solidária; Reciclagem de resíduos.

As publicações na Embrapa Soja também são exemplos da utilidade da comunicação dirigida. Têm papel fundamental para a comunicação, pois direcionam corretamente as informações que contêm. São exemplos de publicações da Unidade livros, anais de eventos, boletins de comunicação administrativa, manuais, folder institucional, cartazes, avisos, cartas, entre outros.

## Veículos de comunicação dirigida oral

Os veículos de comunicação dirigida oral exigem a proximidade entre as pessoas, a interatividades e a troca de idéias. A comunicação oral proporciona um estreitamento de relações e um *feedback* imediato, dando oportunidade de respostas ao receptor.

As reuniões são exemplos de veículos de comunicação dirigida oral e têm uma tarefa fundamental a cumprir diante das estratégias de Relações Públicas. Sua participação programada é um método excelente para democratizar os relacionamentos das organizações. A Embrapa Soja utiliza as reuniões em muitas circunstâncias. Um exemplo é o **Programa Chefia Presente**, uma das ações previstas no Plano de Comunicação



Interna. Todos os anos, desde 2004, são realizadas quatro reuniões da Chefia Geral com o público interno. Essas reuniões são precedidas de convites, abertura para o envio de perguntas e sugestões de temas pelos empregados, organização e divulgação de pauta. As reuniões devem ser participativas, garantindo oportunidade de cada empregado se expressar e opinar, inclusive criticando e sugerindo novos temas por meio de formulário de avaliação entregue durante os eventos. A Chefia discute com seu público interno propostas de melhorias, projetos, recursos, balanço orçamentário, etc. Nessas reuniões, os representantes de AEE, CIPA e SINPAF, assim como gerentes e membros de comitês internos, também têm espaço para falar sobre suas atividades e esclarecer dúvidas ao público interno.

Outro exemplo de comunicação oral é o alto-falante, também muito utilizado na Embrapa Soja como sistema de som interno, com caixas de som localizadas em todas as salas. Os alto-falantes são utilizados para convocar reuniões, divulgar eventos ou até mesmo localizar um funcionário ausente de sua sala habitual. Esse sistema promove fluxo de informações e proporciona resultados imediatos.

## **Veículos de comunicação dirigida auxiliar**

Os veículos de comunicação dirigida auxiliar são privilegiados em vários tipos de programas e abrangem o conjunto dos recursos audiovisuais. Nas relações com os públicos, a comunicação auxiliar tem função complementar, e seus meios constituem um apoio para que a instituição alcance seus objetivos de trabalho.

Em apresentações, palestras, reuniões ou aulas realizadas no auditório da Embrapa Soja, a comunicação recebe auxílio de recursos audiovisuais como: projetor de multimídia, DVD, videocassete, televisão, som e outros. Esses recursos facilitam a assimilação das idéias transmitidas pelo expositor, ilustrando a apresentação e prendendo a atenção de seu receptor.

## Veículos de comunicação dirigida aproximativa

Os veículos de comunicação dirigida aproximativa permitem estabelecer relações pessoais diretas entre a instituição e um público, ou segmento de público, além de integrar a empresa com a comunidade na qual ela se situa.

O auditório é um importante exemplo dessa categoria de veículo de comunicação dirigida. A Embrapa Soja recebe cerca de 8 mil visitantes por ano em seu auditório. De pesquisadores e produtores do exterior a alunos das comunidades próximas à Unidade, todos encontram uma empresa de portas abertas quando visitam a Embrapa.

O Programa “Embrapa e Escola” existe desde 1989 e atende alunos da terceira série do ensino fundamental até a terceira série do ensino médio. Os estudantes são recebidos às quartas-feiras para uma visita dirigida a algumas das instalações da Unidade. Essas visitas ajudam os alunos a conhecer mais sobre os trabalhos e as pesquisas científicas realizados na Embrapa, assim como a influência dessas atividades na vida de cada cidadão. A Embrapa Soja ainda oferece estágio a dezenas de alunos universitários de diferentes áreas de atuação, por isso também recebe um grande número de visitantes com esse interesse.

Por ser um centro de referência tropical na pesquisa científica das culturas de soja, girassol e trigo, produtores e pesquisadores da região e de todo o mundo visitam a Embrapa Soja em busca de informações com os cientistas e técnicos que atuam na Empresa.

É de responsabilidade da ACE fazer com que essas visitas recebam todo o suporte e atenção devidos, pois entende-se que o bom atendimento e a prestação de contas ao cidadão é uma obrigação de uma instituição pública como a Embrapa.

O primeiro passo do setor de Relações Públicas é determinar e identificar seus públicos. Assim “a mensagem, bem planejada e estruturada, e a escolha adequada dos veículos de comunicação dirigida proporcionarão um *feedback* mais rápido, que por sua vez, permite uma análise imediata dos efeitos produzidos”. (FERREIRA, 1997).

Como apoio à formação de um profissional de Relações Públicas, o estágio na ACE da Embrapa Soja proporciona aos estudantes um completo aprendizado por meio de experiências em diversos campos da Comunicação Social. Como exemplos de trabalhos desenvolvidos por estagiários de Relações Públicas na Embrapa Soja pode-se citar o apoio à organização e à execução de eventos técnicos, trabalhos realizados junto à comunicação interna, desenvolvimento de projetos direcionados ao público interno, produção de murais temáticos, corbetura fotográfica de eventos, trabalhos de comunicação visual, organização de campanhas internas, suporte técnico a eventos institucionais, entre outros.

## Referências

ANDRADE, C. T. de S. **Para entender relações públicas**. 3ª ed. São Paulo: Biblos, 1985.

ANDRADE, C. T. de S. **Curso de Relações Públicas – relações com os diferentes públicos**. 6.ed. São Paulo: Pioneira Thomson, Learning, 2003.

FERREIRA, W. Comunicação dirigida: instrumento de relações públicas. In: KUNSCH, M. M. K. (Org.). **Obtendo resultados com relações públicas**. São Paulo: Pioneira, 1997.

FORTES, W. G. **Relações Públicas - Processo, funções, tecnologia e estratégias**. 2.ed. São Paulo: Summus, 2003.

KUNSCH, M. M. K. **Planejamento de relações públicas na comunicação integrada**. São Paulo: Summus, 2003.

# **Quantificação de Rutina e Genistina e Identificação de Metabólitos Secundários em Raízes e Folhas de Soja**

---

KAWASSAKI N.F.C.<sup>1,2</sup>, SALVADOR M.C.<sup>2</sup>, SILVA S.H.<sup>2</sup>, KUNZ E.T.<sup>2</sup>, FILHO J.A.<sup>2</sup>, HOFFMANN-CAMPO C.B.<sup>2</sup> <sup>1</sup>Universidade Norte do Paraná- UNOPAR, nat@cnpso.embrapa.br <sup>2</sup>Embrapa Soja, Caixa Postal 231, 86001-970, Londrina-PR.

Os metabólitos derivados de fenilpropanóides são extensamente distribuídos no reino vegetal. Estão relacionados à proteção de plantas contra insetos, patógenos e raios ultravioletas, bem como na determinação das cores de flores e atração de insetos polinizadores. Devido à sua estrutura diversificada e distribuição complexa, diversos papéis lhes têm sido atribuído, incluindo a possível atuação na regulação do crescimento e desenvolvimento dos vegetais (Graham, 1991). Em soja, flavonóides foram identificados em diversas partes de genótipos da planta (Hoffmann-Campo, 1995).

O objetivo deste trabalho foi identificar flavonóides em diferentes fases do desenvolvimento da soja e quantificar a rutina e a genistina nas cultivares escolhidas.

Os genótipos com característica de resistência a insetos (PI 227687, PI 274454 e Dowling) e 'BR-16' (suscetível) foram semeados com três repetições cada um, em casa-de-vegetação, na Embrapa Soja, Londrina - PR, em vasos de cinco litros, na quantidade de 12 sementes por vaso. Após o desbaste, deixaram-se apenas cinco plantas por vaso. No estágio V5 foram retiradas três plantas por genótipo, sendo uma planta por vaso, escolhida aleatoriamente. No laboratório, as folhas frescas, separadas por estádios de desenvolvimento (V1, V2, V3, V4 e V5), e mais a raiz foram pesadas em balança analítica, com auxílio de um vidro de

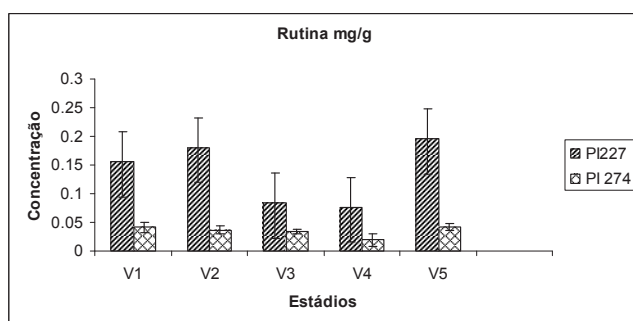
relógio. Após a pesagem, foram maceradas com nitrogênio líquido, em cadinho de porcelana; o macerado foi transferido para tubos de vidro onde se adicionou metanol-80 %, na proporção de cinco vezes o volume do solvente para a massa da amostra. Os extratos foram deixados no ultrassom por 20 minutos e, em seguida, secos em nitrogênio gasoso. As amostras foram ressolubilizadas em 1 mL de MeOH-80 % e retornadas ao ultrassom para completar a dissolução. A seguir, foram filtradas com membrana de nylon, com poros de 0,45  $\mu\text{m}$  e diâmetro de 13 mm, e logo transferidas para frascos de amostrador automático para HPLC. Uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  foi injetada em cromatógrafo líquido, equipado com coluna C18 de fase reversa, de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, com tamanho de partícula de 5 micra. O método utilizado foi com a fase móvel constituída de ácido acético (HOAc) a 2 % (C) e metanol, ácido acético e água, na proporção de 18:1:1 (MeOH:HOAc:H<sub>2</sub>O) (A). O sistema inicial do gradiente foi composto de 75 % de C e 25 % de A. Aos 40 minutos, o sistema inverteu-se e, com 45 minutos, voltou à situação inicial, aí permanecendo até completar 50 minutos de corrida. O fluxo do solvente foi de 1 mL/min. e a absorção de UV foi medida a 260 nm. Os padrões de flavonóides utilizados foram rutina (quercetina 3-O-raminoglicosídeo) e genistina (genisteína, 7-O- $\beta$ -D-glicosídeo). Para obtenção das áreas das substâncias padrões, três concentrações de rutina (0,01, 0,02 e 0,04) e cinco de genistina (0,01, 0,02, 0,04, 0,08 e 0,16), todas em mg/mL, foram injetadas no equipamento, conforme descrito acima. Com as áreas das substâncias-padrão, em suas respectivas concentrações, foi construído um gráfico de dispersão e obtida a equação de regressão linear correspondente. Injetadas as amostras e determinadas as áreas, as concentrações das substâncias (mg/g), em cada genótipo, foram determinadas por meio da referida curva de calibração. Nas folhas dos genótipos estudados, pôde-se observar a presença das seguintes substâncias (Tabela 1).

Na raiz de todos os genótipos foram encontradas daidzina, coumestrol, genistina, malonil-daidzina, malonil-genistina, daidzeína e genisteína.

**Tabela 1.** Identificação das substâncias encontradas nas folhas das cultivares.

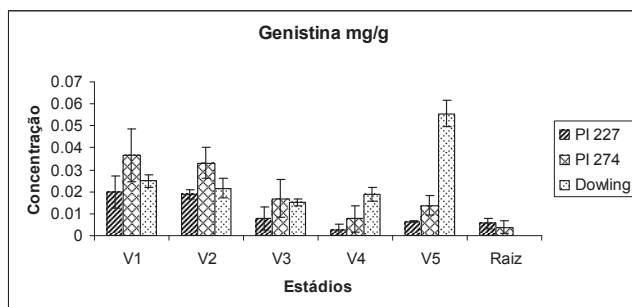
Substâncias	Genótipos			
	BR-16	PI227687	PI274454	Dowling
Canferol	+	+	+	+
Daidzina	+	+	+	+
Daidzeína	+			
Genistina		+	+	+
Gliciteína	+	+	+	+
Malonil daidzina	+	+	+	+
Malonil genistina	+	+	+	+
Rutina		+	+	

(+) presença da substância



**Fig. 1.** Concentração comparada de rutina (mg/g) entre PI 227687 e PI 274454 em diferentes estádios de desenvolvimento.

Comparando-se os genótipos, observou-se que a PI227687 apresentou a maior concentração de rutina em mg/g (Fig.1). Houve, também, diferença na concentração dessa substância quanto aos estádios de desenvolvimento: o estágio V5 apresentou maior concentração ( $0,1957 \pm 0,05$ ) em relação aos estádios V3 e V4 ( $0,0837 \pm 0,06$ ;  $0,0769 \pm 0,01$ ) respectivamente. O genótipo PI274454 apresentou baixa concentração nos diferentes estádios de desenvolvimento, e esse resultado confirma os obtidos por Piubelli (2004).



**Fig. 2.** Concentração comparada de genistina (mg/g) entre Dowling, PI 227687 e PI 274454 em diferentes estádios de desenvolvimento.

Em relação à genistina, foram observadas diferentes concentrações, nos genótipos analisados (Fig. 2). A Dowling apresentou no estágio V5 a maior concentração ( $0,0554 \pm 0,006$ ) dessa substância. Na BR-16 não foram encontradas rutina e genistina nas folhas.

A cultivar BR-16 (suscetível) apresentou o menor número de substâncias, comparativamente aos genótipos considerados resistentes. Genistina e rutina não foram observadas nessa cultivar sugerindo a possibilidade de que a característica de resistência observada nos outros genótipos possa ser decorrente de efeito acumulativo de dois ou mais compostos. Essa hipótese reforça igualmente a possibilidade de que o melhoramento da soja, realizado na maioria das vezes visando à obtenção de características agrônômicas, tais como o aumento de produtividade, não priorize a resistência aos insetos e, com isso, praticamente elimine substâncias secundárias de defesa da planta.

## Referências

- GRAHAM, T.L. Flavonoid and isoflavonoid distribution in developing soyabean seedling tissues and in seed and root exudates. *Plant Physiology*. v. 95, p. 594-603, 1991.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B. Role of the flavonoids in the natural resistance of soyabean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). 1995. 165 f. Dissertation ( Ph.D) – The University of Reading, Reading.

PIUBELLI, G. C. Bioatividade de genótipos da soja resistentes a *Anticarsia gemmatalis* Hübner ( Lepidoptera: Noctuidae) e interações de suas substâncias químicas com inimigos naturais. 2004. 126 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.



# **Aprimoramento de Dieta Artificial Seca para a Criação de Percevejos Fitófagos em Laboratório**

---

MEIGA, A. Y.Y <sup>1</sup>; SIQUEIRA, F <sup>2</sup>.; PANIZZI, A.R <sup>3</sup>. <sup>1</sup> ana\_yoko@hotmail.com, <sup>2</sup> Universidade Federal do Paraná, <sup>3</sup> Embrapa Soja.

A criação de insetos em laboratório tem se mostrado importante para diferentes finalidades, tais como estudos de biologia, testes de resistência e eficácia de inseticidas, aumento da população de predadores e parasitóides, produção de insetos estéreis, testes com plantas resistentes e fins educacionais (Knipling, 1979). Porém, para se estabelecer uma colônia de um inseto qualquer é necessário infraestrutura básica e conhecimento prévio das necessidades do mesmo.

Na criação de percevejos fitófagos, utilizam-se dietas naturais ou artificiais. Entretanto, sabe-se que ambas apresentam aspectos positivos e negativos. Até o momento, as dietas naturais têm-se mostrado mais adequadas para a criação. Contudo, por haver indisponibilidade de alguns nutrientes, presença de aleloquímicos, resíduos de agrotóxicos e falta de um padrão de qualidade, a dieta natural não pode ser considerada um alimento ideal.

Dessa forma, o desenvolvimento de dietas artificiais, que possam suprir as necessidades fisiológicas dos insetos, facilitam a criação em laboratório. Este trabalho tem como objetivo melhorar a qualidade de uma dieta artificial seca, previamente desenvolvida por Panizzi et al. (2000), para a criação de percevejos pentatomídeos fitófagos. Testes envolvendo modificações na dieta artificial seca já foram desenvolvidos por Fortes (2006) e Siqueira (2007), sendo o último, com adição de frutos de *Ligustrum lucidum* Aiton (Oleaceae) liofilizados, à dieta. A adição desses frutos tem por objetivo aumentar a fecundidade das fêmeas. Panizzi et al. (1996) verificaram uma

média de ovos duas a três vezes maior para fêmeas alimentadas com esses frutos, resultados estes corroborados por Coombs (2004).

A campo, foram coletados exemplares do percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas), no período de dezembro a março de 2006/07 em Londrina, PR, levados ao laboratório na Embrapa Soja, colocados em caixas de plástico (20 cm x 20 cm x 24 cm) e mantidos em sala climatizada (25 °C, UR 65 %  $\pm$  10 % e fotofase de 16 horas).

As dietas testadas foram a dieta natural (DN - vagens de feijão, amendoim e frutos de ligustro, *L. lucidum*) utilizada como testemunha e três variações da dieta artificial seca desenvolvida por Panizzi et al. (2000), adicionando-se à dieta padrão, 25 (P25), 50 (P50) e 100 (P100) mg de frutos de ligustro liofilizados.

Para o bioensaio de biologia de ninfas, posturas do percevejo foram coletadas a partir da colônia e colocadas em caixas gerbox (11 cm x 11 cm x 3 cm), forradas com papel filtro, umedecidas com água destilada, mantidas em BOD a 25 °C  $\pm$  1 °C, 65 %  $\pm$  5 % UR e fotofase de 16 horas. No primeiro dia do 2º instar, 40 ninfas (dez ninfas/tratamento) foram individualizadas em placas de Petri (9 cm x 1,5 cm), forradas com papel filtro, supridas com uma solução de estreptomicina (125 mg/l) colocadas em tampinhas plásticas com algodão, e alimentadas com cubos de 0,3 cm x 0,3 cm de cada dieta artificial seca acima citadas.

Para o bioensaio de biologia de adultos, exemplares recém-emergidos provenientes da colônia foram sexados, pesados e separados em casais em caixas gerbox. Para cada tratamento foram utilizados dez casais, sendo ofertadas as mesmas dietas utilizadas no bioensaio anterior, tendo a dieta natural como testemunha. As caixas gerbox foram mantidas em BOD como na biologia de ninfas. Durante 40 dias foram feitas observações diárias, para registro da mortalidade, número de massas de ovos e número total de ovos, além de avaliar a sobrevivência dos adultos e a fecundidade das fêmeas, uma vez que os ovos foram mantidos em placas de Petri para posterior registro de eclosão das ninfas. Para o ganho de peso, os adultos foram pesados no 1º e 29º dias.

Observou-se que todas as dietas permitiram o desenvolvimento completo do inseto, sendo que 100 % das ninfas atingiram a fase adulta na dieta natural, 70 % na dieta P25 e 50 % nas dietas P50 e P100. As ninfas demoraram, em média, cerca de 22 dias para completar o desenvolvimento na DN; 25 dias na dieta P25, 28-30 dias nas dietas P50 e P100.

O bioensaio de adultos mostrou que o período de pré-oviposição foi menor na dieta natural (8,5 dias), seguido pelas dietas P25 (13,0), P100 (14,5) e P50 (15,0 dias). A porcentagem de fêmeas que ovipositou variou de 60 % -70 % na DN e P25, decrescendo a 20 % nas dietas P50 e P100. A fecundidade, nos primeiros 40 dias de vida, variou de 68 ovos/fêmea na DN, a 50 ovos/fêmea na dieta P25, diminuindo para 36 ovos/fêmea, na dieta P50, e 19 ovos/fêmea na dieta P100. A viabilidade dos ovos foi baixa em todas as dietas, variando de 36 % a 54 %. O ganho de peso fresco das fêmeas após 29 dias de vida adulta, foi maior na dieta P50 (92 %), seguido pela dieta P25 (76 %) e DN e P100 (65 %). Machos ganharam mais peso nas dietas P25 (69 %) e DN (68 %), seguidos pela dieta P100 (65 %) e pela dieta P50 (59 %).

Os resultados obtidos mostraram que a inclusão de frutos do ligustro liofilizado na dose de 25 mg na dieta padrão original apresentou os melhores resultados, em alguns parâmetros, sendo comparável à dieta natural. As dietas P50 e P100 de forma geral não se mostraram eficientes para a criação de *D. melacanthus*. Novos estudos com doses menores de frutos de ligustro liofilizados serão conduzidos.

## Referências

- COOMBS, M. Broadleaf privet, *Ligustrum lucidum* Aiton (Oleaceae), a late-season host for *Nezara viridula* (L.), *Plautia affinis* Dallas and *Glaucias amyoti* (Dallas) Hemiptera: Pentatomidae). **Australian Journal Entomology**, v. 43: 335-339, 2004
- FORTES, P., MAGRO, S.R., PANIZZI, A.R & PARRA, J.R.P.. Development of a dry artificial diet for *Nezara viridula* (L.) and *Euschistus*

*heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 35: 567-572., 2006.

KNIPLING, E.F. The basic principles of insect population suppression and management. USDA Agric. Handb, 1979, p. 512.

PANIZZI, A.R., VIVAN, L.M., CORRÊA-FERREIRA, B.S. & FOERSTER, L.A.. Performance of green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs and adults on a novel food plant (Japanese Privet) and other hosts. **Annals of the Entomological Society of America**, v.89, p. 821-827, 1996.

SIQUEIRA, F. **Adição de frutos de *Ligustrum lucidum* Ait. (Oleaceae) em dieta artificial seca para a criação do percevejo-marrom *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae)**. 2007. 43f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal do Paraná, 2007, p 43.

# **Normas Dris para Avaliação do Estado Nutricional de Cultivares de Soja Convencional e Transgênica**

---

LUCAS MESSIAS ROMAGNOLI<sup>1</sup>; FÁBIO ALVARES DE OLIVEIRA<sup>1</sup>; CÉSAR DE CASTRO<sup>1</sup>, GEDI JORGE SFREDO<sup>1</sup> Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina, Paraná.

Em sistemas agrícolas de alta produtividade, a busca do equilíbrio nutricional depende do aumento da eficiência da utilização de fertilizantes. A diagnose nutricional pela análise de folhas constitui uma metodologia complementar para a avaliação da fertilidade do solo e fundamental para a correção de desvios nutricionais. A precisão do diagnóstico nutricional é dependente de diversos fatores que interferem na absorção de nutrientes pelas plantas. O presente trabalho teve como objetivos a geração de normas DRIS para a avaliação do estado nutricional de cultivares de soja convencional e transgênica e a identificação dos padrões nutricionais para cada grupo. O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Soja, utilizando-se um banco de dados com resultados de produtividade e de análise química de tecido vegetal (SILVA, 1999), especificamente de folhas recém maduras coletadas no estágio R1 (FEHR & CAVINESS, 1977) de 276 amostras de cultivares de soja convencional (136) e transgênica (140), avaliadas em um experimento para o melhoramento genético da soja, sob o delineamento em blocos casualizados, executado no campo experimental da Embrapa Soja, em área de Latossolo Vermelho distroférrico, na safra 2005/2006.

Os resultados experimentais foram analisados estatisticamente para a avaliação da normalidade e homogeneidade do conjunto de dados (PIMENTEL GOMES, 1990). Para compor a população de referência para a geração das normas DRIS para a soja foram aplicados três critérios de seleção. O primeiro, baseado na produtividade, eliminou as amostras de soja convencional com produtividade inferior a 1000 kg ha<sup>-1</sup> e de soja

transgênica com produtividade inferior a 1500 kg ha<sup>-1</sup>, considerando-se a relação direta entre equilíbrio nutricional e produtividade. Os valores de produtividade utilizados como critério de seleção foram baixos, devido aos problemas climáticos verificados na safra 2005/06, que ocasionaram um desempenho produtivo médio de 1845 kg ha<sup>-1</sup> para todo o experimento.

O segundo critério utilizado para a seleção foi baseado nos valores dos teores nutricionais, utilizando-se amostras com teores próximos aos descritos como suficientes em literatura (TECNOLOGIAS..., 2006) e apresentados na Tabela 1. Por fim, utilizou-se um terceiro critério estatístico, eliminando-se pontos discrepantes da média populacional para a relação entre a produtividade e o índice de equilíbrio nutricional (IBN médio).

A partir das seleções realizadas, restaram 70 amostras de cultivares convencionais e 65 amostras de cultivares transgênicas, as quais foram utilizadas para a composição de três populações de referência. A primeira com amostras de cultivares convencionais e transgênica, a segunda somente com cultivares convencionais e a terceira somente com cultivares transgênicas. A partir dessas populações, foram geradas as normas DRIS, compostas das relações reduzidas entre nutrientes diretas e inversas e respectivos desvios-padrão. Os componentes das normas foram utilizados para o cálculo dos índices DRIS para as amostras avaliadas, pelo procedimento de JONES (1981) e de acordo com ALVAREZ V. & LEITE (1999). O IBN médio foi gerado para cada amostra componente da respectiva população de referência para, a seguir, ser correlacionado com os dados de produtividade.

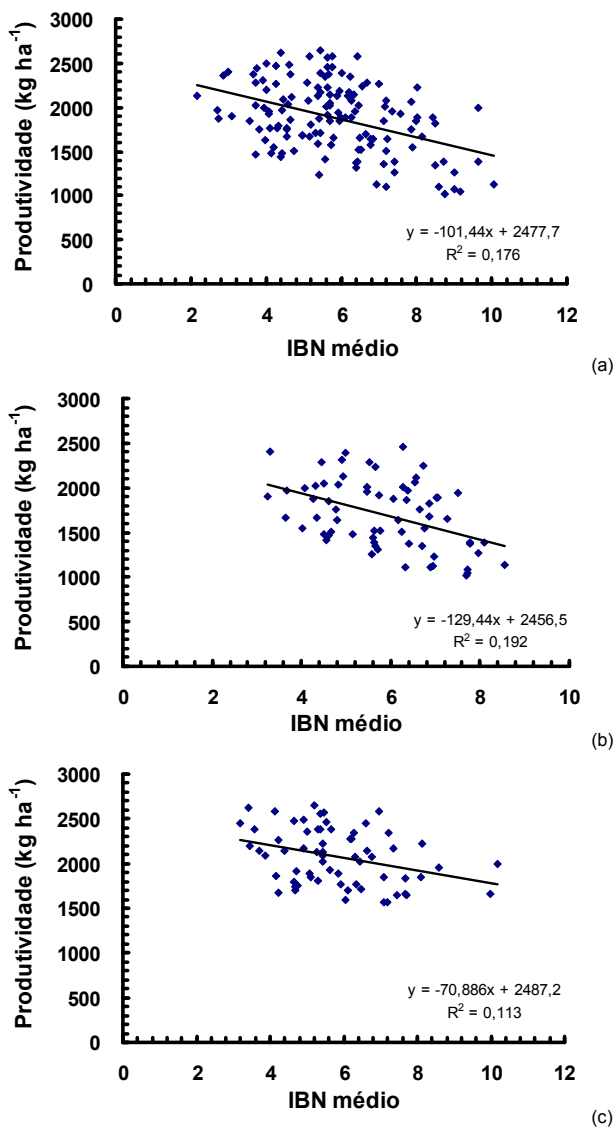
Os teores nutricionais apresentaram diferenças entre as populações convencional e transgênica verificando-se, principalmente, menores teores de cálcio, magnésio e manganês acumulados pelas cultivares transgênicas (Tabela 1).

Para as três populações de referência, houve correlação linear negativa entre a produtividade e o IBN médio, demonstrando o efeito do equilíbrio nutricional para a manutenção do potencial produtivo da soja (Fig. 1).

Contudo, as populações de cultivares de soja convencionais e transgênicas, quando analisadas separadamente, apresentaram modelos lineares com coeficientes angulares distintos. Para a população conjunta de cultivares convencionais e transgênicas, o coeficiente angular da reta foi de -101,44, ao passo que os coeficientes angulares variaram de -129,44 a -70,89 quando se correlacionou separadamente as populações de cultivares convencionais e transgênicas, respectivamente. Essas diferenças indicam que o equilíbrio nutricional pode estar relacionado com as características genéticas das populações convencionais e transgênicas. Portanto, a geração de normas DRIS com a população conjunta implicaria em menor homogeneidade dos padrões de referência e, consequentemente, na menor precisão do diagnóstico nutricional realizado pelo método DRIS.

**Tabela 1.** Teores médios de nutrientes e desvio-padrão das amostras de folhas de soja selecionadas em populações conjunta, convencional e transgênica, no município de Londrina (safra 2005/2006).

Nutriente	Conjunta	Convencional	Transgênica
	----- g kg <sup>-1</sup> -----		
<b>Nitrogênio</b>	55,7 ± 2,5	56,3 ± 2,3	54,9 ± 2,6
<b>Fósforo</b>	3,0 ± 0,4	3,3 ± 0,4	2,7 ± 0,2
<b>Potássio</b>	20,8 ± 2,0	21,4 ± 2,0	20,2 ± 1,8
<b>Cálcio</b>	10,4 ± 1,9	11,7 ± 1,4	8,9 ± 1,1
<b>Magnésio</b>	4,4 ± 0,9	5,1 ± 0,8	3,8 ± 0,4
<b>Enxofre</b>	2,8 ± 0,3	3,0 ± 0,3	2,6 ± 0,2
	----- mg kg <sup>-1</sup> -----		
<b>Boro</b>	43,3 ± 4,0	44,6 ± 4,1	42,0 ± 3,3
<b>Cobre</b>	9,5 ± 0,9	9,8 ± 0,9	9,2 ± 0,7
<b>Ferro</b>	296,0 ± 34,4	278,2 ± 38,6	315,2 ± 13,7
<b>Manganês</b>	126,8 ± 22,8	139,4 ± 21,6	113,9 ± 15,0
<b>Zinco</b>	34,2 ± 5,5	35,9 ± 6,3	32,3 ± 3,6
<b>Produtividade (kg ha<sup>-1</sup>)</b>	1894 ± 401	1724 ± 402	2075 ± 310



**Fig. 1.** Produtividade e IBN médio gerado a partir das amostras selecionadas da população de referência com as cultivares convencionais e transgênicas a), convencionais (b) e transgênicas (c).



## Referências

ALVAREZ V. V, H; LEITE, R.A. Fundamentos estatísticos das fórmulas usadas para cálculos dos índices dos nutrientes no Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação – DRIS. **Boletim Informativo Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, n.1, p 20 - 24, 1999.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).

JONES, C.A. Proposed modifications of the diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) for interpreting plant analysis. **Commun. Soil Sci. and Plant Anal.**, v.12, p.785-974, 1981.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13 ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

SILVA, F.C. (org.). **Manual de análises químicas e solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 370p.

TECNOLOGIAS de produção de soja - região central do Brasil 2007. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. 225 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 11).



---

*Soja*

CGPE 6866

**Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

